

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA PTEROKARPAN
DARI KULIT BATANG *Dalbergia latifolia* Roxb.
SERTA UJI AKTIVITAS SEBAGAI ANTI-HIV**

SKRIPSI



RIZKY RATU BALQIS

**PROGRAM STUDI S-1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2016**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA PTEROKARPAN
DARI KULIT BATANG *Dalbergia latifolia* Roxb.
SERTA UJI AKTIVITAS SEBAGAI ANTI-HIV**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh

Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia

pada Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

Oleh :

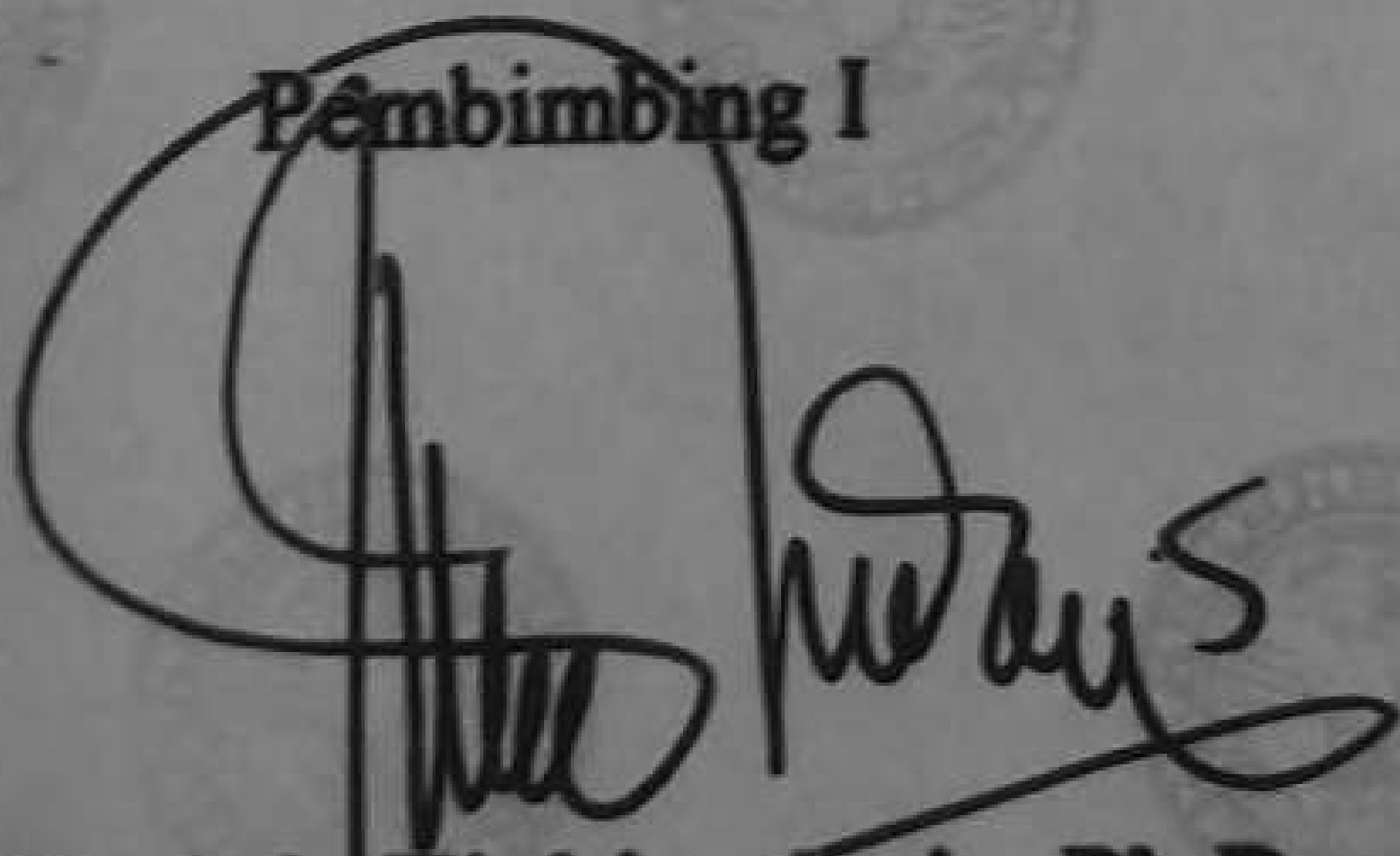
RIZKY RATU BALOIS

NIM. 081211531128

Telah dinyatakan lulus pada 19 Juli 2016

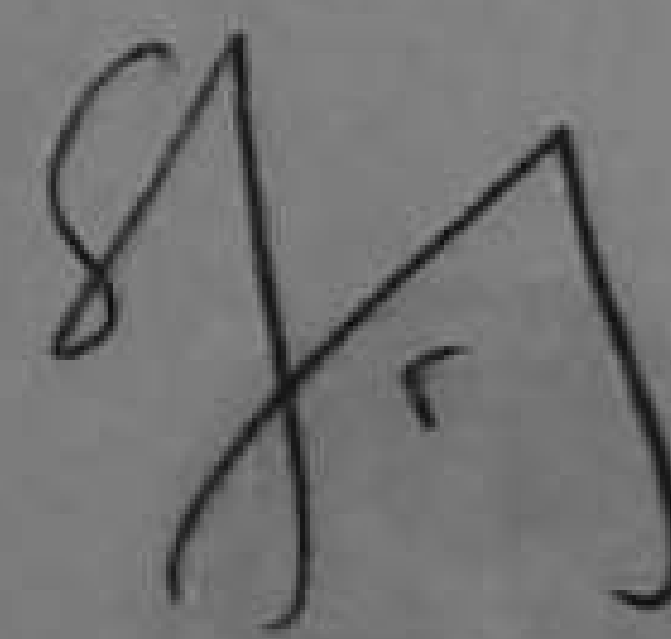
Disetujui Oleh :

Pembimbing I



Tiitjik Srie Tiahiandarie, Ph.D
NIP. 196502061988102001

Pembimbing II



Dr. Mulvadi Taniung, M.S
NIP. 196504221991021001

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Isolasi dan Identifikasi Senyawa Pterokarpan dari Kulit Batang *Dalbergia latifolia* Roxb. serta Uji Aktivitas sebagai Anti-HIV

Penyusun : Rizky Ratu Balqis

NIM : 081211531128

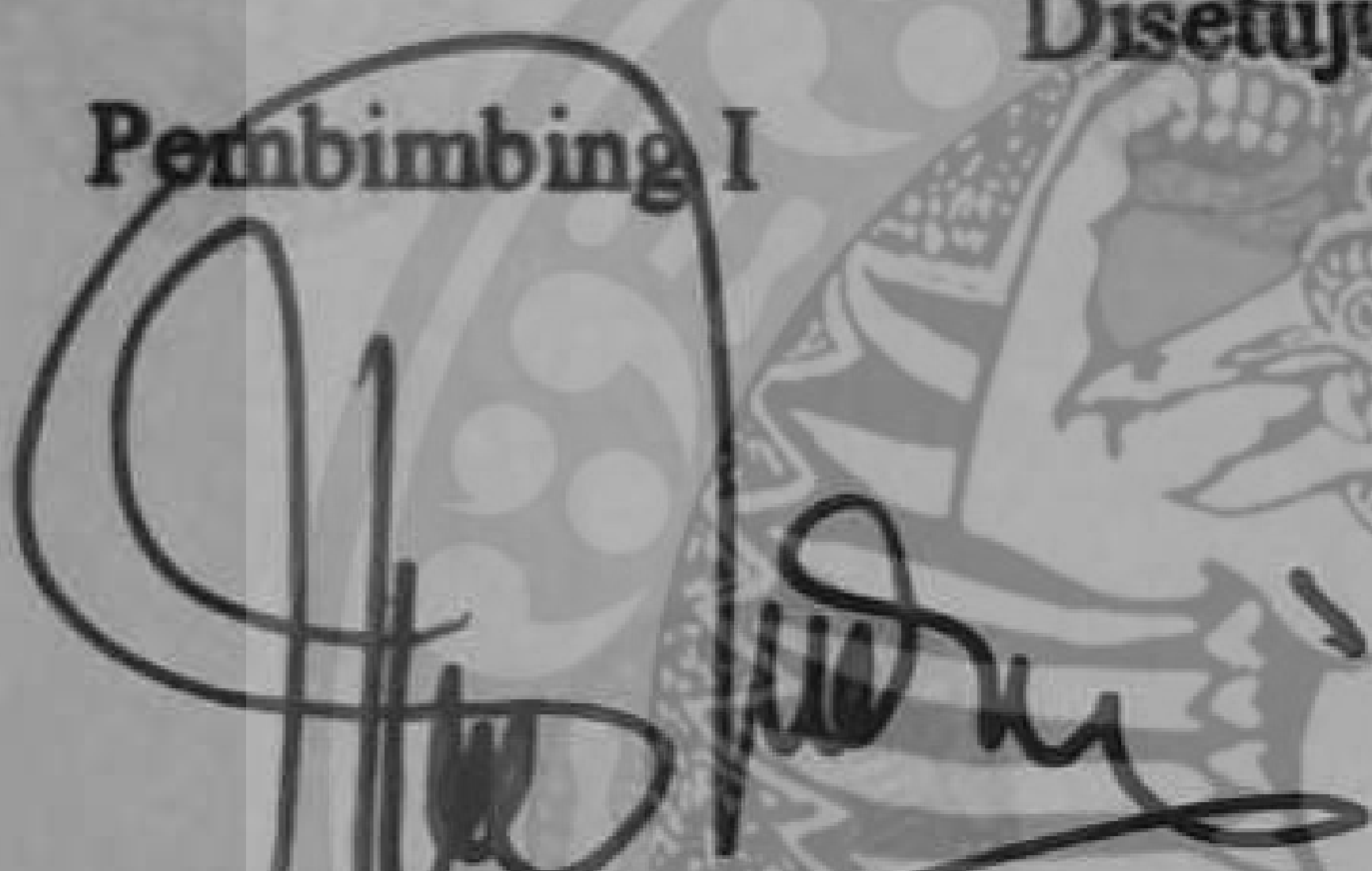

Pembimbing I : Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D

Pembimbing II : Dr. Mulyadi Tanjung, M.S

Tanggal Ujian : 19 Juli 2016

Disetujui Oleh :

Pembimbing I **Pembimbing II**

Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D **Dr. Mulyadi Tanjung, M.S**
NIP. 196502061988102001 **NIP. 196504221991021001**

Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1 Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Dr. Purkan, M.Si
NIP. 197211161997021001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah S.W.T. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penyusunan naskah skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Identifikasi Senyawa Pterokarpan dari Kulit Batang *Dalbergia latifolia* Roxb. serta Uji Aktivitas sebagai Anti-HIV”**. Naskah skripsi ini dibuat untuk memenuhi persyaratan akademis pendidikan pada program studi S-1 Kimia di Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini, penyusun mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan penelitian skripsi ini terutama kepada :

1. Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D selaku dosen pembimbing I yang telah membimbing penyusun selama penyusunan dan penyelesaian naskah skripsi.
2. Dr. Mulyadi Tanjung, M.S selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing penyusun selama penyusunan dan penyelesaian naskah skripsi.
3. Dr. Purkan, M.Si sebagai Ketua Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, yang telah memberikan motivasi.
4. Drs. Handoko Darmokoesoemo, DEA selaku dosen wali yang telah memberikan nasihat dan motivasi.
5. Seluruh staf pengajar atas ilmu yang diberikan.
6. Ratih Dewi Saputri, S.Si., M.Si. yang banyak memberikan masukan selama proses penyelesaian skripsi.
7. Nur Cholid Djauhari, Anik Julaila, Izzul Haq Raja Sulaiman dan keluarga atas dukungan serta doa untuk selesainya penulisan naskah skripsi.
8. Wahyu Sara Novita, Okky Putri Rahayu, Dian Ningsih, Baharrani Dwi Kurnia, Muafillah Shofah, Murobbiyatul Wathoniyyah, Dini Oktavia dan Erika Herdiana yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama menempuh kuliah.
9. Mahasiswa kimia angkatan 2012 yang selalu memberikan dukungan.

Penyusun menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam naskah skripsi ini. Oleh karena itu, penyusun mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kesempurnaan naskah skripsi ini.

Surabaya, 30 Mei 2016
Penulis,

Rizky Ratu Balqis

Balqis, R. R., 2016, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Pterokarpan dari Kulit Batang *Dalbergia latifolia* Roxb. serta Uji Aktivitas sebagai Anti-HIV. Skripsi ini di bawah bimbingan Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D, dan Dr. Mulyadi Tanjung, M.S, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Dalbergia latifolia Roxb. merupakan salah satu spesies dari famili Fabaceae dan dikenal dengan nama daerah sonokeling. Senyawa yang banyak ditemukan pada tanaman ini adalah dari golongan isoflavonoid. Pterokarpan merupakan salah satu jenisnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan struktur kimia senyawa pterokarpan dari kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. serta menentukan aktivitas anti-HIV senyawa pterokarpan hasil isolasi terhadap virus HIV-1. Ekstraksi dan isolasi senyawa pterokarpan dari kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. menggunakan pelarut metanol yang dilanjutkan dengan fraksinasi dan pemurnian menggunakan berbagai teknik kromatografi meliputi kromatografi cair vakum, kromatografi kolom tekan dan kromatografi radial menghasilkan satu senyawa pterokarpan, medikarpin dan satu senyawa isoflavan, (3R)-vestitol. Struktur keduanya ditetapkan berdasarkan metode spektroskopi meliputi UV, IR, HR-ESI-MS, 1D NMR (¹H-NMR dan ¹³C-NMR) serta 2D NMR (HMBC dan HMQC). Uji aktivitas anti-HIV ekstrak etilasetat dan kedua senyawa hasil isolasi menggunakan metode pembentukan *syncytia* terhadap virus HIV-1 memperlihatkan nilai IC₅₀ berturut-turut 0,78; 23,26 dan 26,45 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi berpotensi sebagai anti-HIV.

Kata kunci : *Dalbergia latifolia* Roxb., medikarpin, (3R)-vestitol, anti-HIV

Balqis, R. R., 2016, Isolation and Identification Pterocarpan Compound from The Stem Bark of *Dalbergia latifolia* Roxb. and Anti-HIV Activity. This thesis is under the guidance of Tjitjik Srie Tjahjandarie, Ph.D, and Dr. Mulyadi Tanjung, M.S, Departement of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

Dalbergia latifolia Roxb. is one species of Fabaceae family and known as sonokeling in local name. The compound that mostly found from this plant is isoflavonoid. Pterocarpan is one type of this group. The objectives of this research are to determine the chemical structure of pterocarpan compound from the stem bark of *Dalbergia latifolia* Roxb. and to determine anti-HIV activity of isolated compound against HIV-1 virus. Extraction and isolation of pterocarpan compound from the stem bark of *Dalbergia latifolia* Roxb. were using methanol solvent followed by fractionation and purification using various chromatographic techniques including vacuum liquid chromatography, flash chromatography and radial chromatography, yielded one pterocarpan compound, medicarpin, and one isoflavan compound, (3R)-vestitol. The structure of both compounds was determined by spectroscopic methods, including UV, IR, HR-ESI-MS, 1D NMR (¹H-NMR and ¹³C-NMR) and 2D NMR (HMBC and HMQC). The anti-HIV activities of etilacetate extract and isolated compounds against HIV-1 virus by syncytia assay showed IC₅₀ values of 0,78; 23,26 dan 26,45 ppm, respectively. It shows that isolated compounds potential to be anti-HIV agent.

Keywords : *Dalbergia latifolia* Roxb., medicarpin, (3R)-vestitol, anti-HIV

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Rizky Ratu Balqis
NIM : 081211531128
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul :

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Pterokarpan dari Kulit Batang *Dalbergia latifolia* Roxb. serta Uji Aktivitas sebagai anti-HIV

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah diterapkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 30 Mei 2016



Rizky Ratu Balqis
NIM 081211531128

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
PERNYATAAN ORISINALITAS	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1 <i>Dalbergia latifolia</i> Roxb.....	5
2.2 Profil Fitokimia <i>Dalbergia</i>	6
2.3 Flavonoid	8
2.4 Isoflavonoid	9
2.4.1 Isoflavon.....	10
2.4.2 Pterokarpan.....	12
2.4.3 Rotenoid	14
2.4.4 Isoflavan	15
2.4.5 Isoflavanon	16
2.5 Biosintesis Senyawa Pterokarpan.....	17
2.6 Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Pterokarpan.....	19
2.7 Analisis Spektroskopi Senyawa Pterokarpan.....	20
2.8 Bioaktivitas Senyawa Fenolik <i>Dalbergia</i>	22
2.9 Tinjauan tentang HIV	23
 BAB III METODE PENELITIAN	 25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.2 Sampel dan Bahan Penelitian.....	25
3.2.1 Sampel penelitian.....	25
3.2.2 Bahan penelitian	26
3.3 Peralatan Penelitian	26
3.4 Prosedur Kerja.....	27
3.4.1 Ekstraksi dan pemurnian senyawa pterokarpan	27

3.4.2 Penentuan struktur molekul senyawa pterokarpan	28
3.4.3 Penentuan aktivitas anti-HIV	29
3.4.3.1 Penyiapan kultur	29
3.4.3.2 Penentuan aktivitas anti-HIV	30
3.4.3.3 Analisis data	30
3.5 Diagram Alir Penelitian	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Ekstraksi dan Pemurnian Senyawa Fenolik	32
4.2 Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi	34
4.2.1 Senyawa medikarpin (DL ₁)	34
4.2.2 Senyawa (3R)-vestitol (DL ₂)	44
4.3 Penentuan Aktivitas Anti-HIV Senyawa Hasil Isolasi	53
BAB V PENUTUP	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul Tabel	Halaman
2.1	Keragaman senyawa fenolik tumbuhan <i>Dalbergia</i>	7
2.2	Distribusi senyawa isoflavon tumbuhan <i>Dalbergia</i>	10
2.3	Distribusi senyawa pterokarpan tumbuhan <i>Dalbergia</i>	13
2.4	Distribusi senyawa rotenoid tumbuhan <i>Dalbergia</i>	14
2.5	Distribusi senyawa isoflavan tumbuhan <i>Dalbergia</i>	15
2.6	Distribusi senyawa isoflavanon tumbuhan <i>Dalbergia</i>	16
2.7	Ekstraksi dan isolasi senyawa pterokarpan <i>Dalbergia</i>	20
2.8	Distribusi bioaktivitas senyawa fenolik tumbuhan <i>Dalbergia</i>	22
4.1	Data spektrum HMQC senyawa pterokarpan hasil isolasi dalam CDCl ₃	38
4.2	Data spektrum ¹ H dan ¹³ C-NMR senyawa medikarpin dalam CDCl ₃	42
4.3	Perbandingan data spektrum NMR senyawa medikarpin	43
4.4	Data spektrum HMQC senyawa isoflavan hasil isolasi dalam CDCl ₃ ...	46
4.5	Data spektrum ¹ H dan ¹³ C NMR senyawa vestitol hasil isolasi dalam aseton- <i>d</i> ₆	51
4.6	Perbandingan data spektrum NMR senyawa (3R)-vestitol	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul Gambar	Halaman
2.1	Kerangka dasar senyawa flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid.....	9
2.2	Kerangka dasar senyawa turunan isoflavonoid.....	10
2.3	Senyawa jenis isoflavan pada tumbuhan <i>Dalbergia</i>	12
2.4	Senyawa jenis pterokarpan pada tumbuhan <i>Dalbergia</i>	14
2.5	Senyawa jenis rotenoid pada tumbuhan <i>Dalbergia</i>	15
2.6	Senyawa jenis isoflavan pada tumbuhan <i>Dalbergia</i>	16
2.7	Senyawa jenis isoflavanon pada tumbuhan <i>Dalbergia</i>	17
2.8	Biosintesis senyawa pterokarpan	19
2.9	Struktur senyawa velukarpin A.....	21
3.1	Diagram alir penelitian	31
4.1	Struktur senyawa pterokarpan.....	35
4.2	Pola substitusi senyawa pterokarpan DL ₁	36
4.3	Kemungkinan struktur senyawa pterokarpan DL ₁	36
4.4	Korelasi sinyal proton H-6 dengan C-4a, C-6a, C-6b dan C-11a	39
4.5	Korelasi sinyal proton H-1 dengan C-4a dan C-11a	40
4.6	Korelasi sinyal proton H-2 dengan C-3, C-4 dan C-11b	40
4.7	Korelasi sinyal proton H-4 dengan C-2, C-4a dan C-11b	41
4.8	Struktur medikarpin hasil isolasi.....	41
4.9	Korelasi H-7, H-8 dan H-10 pada spektrum HMBC.....	42
4.10	Pola substitusi senyawa isoflavan DL ₂	45
4.11	Korelasi antara sinyal proton H-2 dengan sinyal karbon C-4, C-8a dan C-1'	47
4.12	Korelasi antara sinyal proton H-2 dengan sinyal karbon C-2; C-3, C-4a; C-5; C-8a dan C-1'	47
4.13	Senyawa isoflavan yang tersubstitusi di C-7/2'/C-4'	48
4.14	Korelasi antara H-6 dengan sinyal karbon di C-4a; C-6; dan C-8a	48
4.15	Korelasi antara 7-OH dengan sinyal karbon di C-6; C-7; dan C-8	49
4.16	Korelasi antara H-3 dengan sinyal karbon di C-2; C-4; C-4a; C-1'; C-2' dan C-6'	50
4.17	Korelasi antara 2'-OH dengan sinyal karbon di C-1'; C-2' dan C-3'	50
4.18	Struktur senyawa vestitol hasil isolasi.....	51
4.19	Struktur senyawa (3R)-vestitol hasil isolasi	52
4.20	Hubungan biosintesis senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol.....	53
5.1	Struktur senyawa medikarpin (1) dan (3R)-vestitol (2)	56

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul Lampiran
1.	Hasil pengukuran spektrum UV senyawa medikarpin dalam metanol
2.	Hasil pengukuran spektrum IR senyawa medikarpin
3.	Hasil pengukuran spektrum ^1H -NMR senyawa medikarpin
4.	Hasil pengukuran spektrum ^{13}C -NMR senyawa medikarpin
5.	Hasil pengukuran spektrum HMQC senyawa medikarpin
6.	Hasil pengukuran spektrum HMBC senyawa medikarpin
7.	Hasil pengukuran spektrum UV senyawa (3R)-vestitol dalam metanol
8.	Hasil pengukuran spektrum IR senyawa (3R)-vestitol
9.	Hasil pengukuran spektrum HRESIMS senyawa (3R)-vestitol
10.	Hasil pengukuran spektrum ^1H -NMR senyawa (3R)-vestitol
11.	Hasil pengukuran spektrum ^{13}C -NMR senyawa (3R)-vestitol
12.	Hasil pengukuran spektrum HMQC senyawa (3R)-vestitol
13.	Hasil pengukuran spektrum HMBC senyawa (3R)-vestitol
14.	Data hasil uji aktivitas anti-HIV ekstrak etilasetat, senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Dalbergia latifolia Roxb. merupakan salah satu spesies tumbuhan dari famili Fabaceae dan dikenal dengan nama daerah sonokeling. Tumbuhan ini termasuk jenis *rosewood* setelah pohon jati. *Dalbergia* merupakan jenis tumbuhan yang dilindungi mengingat banyaknya dieksploitasi masyarakat untuk digunakan sebagai *furniture* karena sifatnya yang tahan lama dan resisten terhadap hama (Chibber, *et al.*, 1978). Di Thailand, tumbuhan ini digunakan sebagai obat-obatan tradisional diantaranya untuk ekspektoran, kardiotonik, dan tonik untuk melancarkan menstruasi (Songsiang, *et al.*, 2011). Hal ini tentu saja berhubungan dengan senyawa metabolit sekunder yang dikandungnya.

Senyawa metabolit sekunder yang telah dilaporkan dalam tumbuhan *Dalbergia* diantaranya dari golongan flavonoid, isoflavonoid, neoflavonoid, alkaloid, aril benzofuran, benzofenon dan terpenoid. *Dalbergia* merupakan satu-satunya genus tumbuhan yang menghasilkan ketiga golongan flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid sekaligus (Beldjoudi, *et al.*, 2003; Parthasarathy, *et al.*, 1976; Sripathi, *et al.*, 1994; Gregson, *et al.*, 1978; Muangnoucharoen, *et al.*, 1981). Bioaktivitas dari tumbuhan ini adalah positif sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungi, antiandrogenik, anti-TBC, antitumor, analgesik, antidiare, antiigiardial dan antikanker (Cheng, *et al.*, 1998; Kale, *et al.*, 2007; Hamburger, *et*

al., 1987; Pathak, *et al.*, 1997; Wang, *et al.*, 2014; Khan, *et al.*, 2000; Umehara, *et al.*, 2009).

Berdasarkan studi pustaka, senyawa metabolit sekunder yang paling banyak dikandung dalam tumbuhan *Dalbergia* adalah senyawa isoflavonoid. Senyawa golongan isoflavonoid yang terdapat pada tumbuhan ini diantaranya dari jenis isoflavon, pterokarpan, rotenoid, isoflavan dan isoflavanon (Donnelly, *et al.*, 1968; Cheenpracha, *et al.*, 2009; Sripathi, *et al.*, 1994; Umehara, *et al.*, 2009). Senyawa-senyawa ini ditemukan baik dalam akar, batang, kulit batang, daun, maupun bijinya.

Pterokarpan merupakan salah satu jenis senyawa isoflavonoid yang memiliki cincin benzofuran dan benzopiran. Senyawa pterokarpan yang ditemukan pada tumbuhan *Dalbergia* sebagian telah diuji aktivitas biologisnya, diantaranya adalah aktif melawan sel kanker usus besar, payudara dan serviks (Cheenpracha, *et al.*, 2009). Berdasarkan keterangan tersebut hingga saat ini belum ada data publikasi senyawa pterokarpan *Dalbergia* tentang aktivitas sebagai anti-HIV. 9-Benziloksi-3,8-dimetoksipterokarpan dan 9-benziiloksi-8-metoksipterokarpan merupakan senyawa turunan pterokarpan yang memperlihatkan aktivitas sebagai anti-HIV (Engler *et al.*, 1996; Ye *et al.*, 2000). Oleh karena itu, perlu untuk diteliti bioaktivitas senyawa pterokarpan hasil isolasi dari tumbuhan *Dalbergia* dalam melawan virus HIV-1.

Human immunodeficiency virus (HIV) merupakan penyakit yang disebabkan virus dimana menyerang sel limfosit sehingga menyebabkan berkurangnya sistem imun tubuh. Mekanisme kerja virus dalam replikasi

dipengaruhi oleh dua hal yakni enzim *reverse transcriptase* dan *protease*. Oleh karena itu, sistem kerja *reverse transcriptase* dan *protease* perlu dihambat dengan senyawa aktif. Senyawa pterokarpan dari *Dalbergia latifolia* Roxb diharapkan mempunyai bioaktivitas dalam menghambat sistem kerja tersebut.

Berdasarkan studi pendahuluan, hasil kromatografi lapis tipis kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. yang mengandung senyawa pterokarpan menghasilkan noda warna merah dengan pereaksi anisaldehida dan berfluororesensi di bawah lampu UV.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan identifikasi senyawa pterokarpan dari kulit batang tumbuhan *Dalbergia latifolia* Roxb. serta menentukan aktivitas sebagai anti-HIV.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah ekstraksi dengan pelarut metanol dilanjutkan dengan partisi, fraksinasi dan pemurnian menggunakan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom tekan dan kromatografi radial. Penentuan struktur molekul dilakukan berdasarkan cara-cara spektroskopi diantaranya spektroskopi ultraviolet (UV), inframerah (IR), spektroskopi massa (MS) dan resonansi magnet inti (NMR). Uji terhadap ekstrak dan senyawa pterokarpan hasil isolasi dalam berbagai konsentrasi sebagai anti-HIV menggunakan sel limfosit manusia (MOLT4) dalam media RPMI-1640. Evaluasi nilai potensial sitotoksik anti-HIV dari ekstrak dan senyawa pterokarpan hasil isolasi ditentukan berdasarkan nilai daya hambat konsentrasi IC₅₀.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan, maka rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimanakah struktur senyawa pterokarpan yang terdapat pada kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. ?
2. Bagaimanakah aktivitas anti-HIV ekstrak etilasetat dan senyawa pterokarpan hasil isolasi ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan struktur senyawa pterokarpan yang terdapat pada kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb.
2. Menentukan aktivitas anti-HIV berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak etilasetat dan senyawa pterokarpan hasil isolasi yang terdapat pada kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah diharapkan senyawa hasil isolasi menambah keragaman senyawa pterokarpan dari tumbuhan *Dalbergia latifolia* Roxb. Selain itu, memberikan informasi tentang aktivitas senyawa tersebut sebagai anti-HIV.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Dalbergia latifolia* Roxb.

Dalbergia latifolia Roxb. merupakan salah satu spesies dari genus *Dalbergia* yang hanya terdapat di Pulau Jawa dan dikenal dengan nama daerah sonokeling. Kayu *Dalbergia latifolia* Roxb. mempunyai nilai ekonomi yang tinggi dan dikategorikan jenis kayu *rosewood* setelah pohon jati. Kayu tumbuhan ini tahan terhadap rayap dan kuat, sehingga masyarakat memanfaatkannya sebagai bahan bangunan seperti mebel, kusen, pintu dan jendela. Selain itu, kayu tumbuhan ini memiliki tekstur yang khas dan halus sehingga digunakan sebagai bahan *handcraft*. Berdasarkan nilai ekonomi tersebut maka menjadi ancaman utama kelestarian *Dalbergia latifolia* Roxb. sehingga populasi tumbuhan ini sulit ditemukan (Heyne, 1987). Oleh karena itu, tumbuhan ini termasuk daftar tumbuhan yang dilindungi oleh Badan Konservasi Dunia. Berdasarkan data Tabel 2.1, telah dilaporkan senyawa isoflavonoid pada biji *Dalbergia latifolia* dari India namun sampai saat ini belum ada data laporan ilmiah senyawa metabolit sekunder tumbuhan tersebut dari Indonesia.

Berikut adalah klasifikasi tumbuhan *Dalbergia latifolia* Roxb. secara taksonomi

Kingdom	: Plantae
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Rosanae

Ordo : Fabales
 Famili : Fabaceae
 Genus : *Dalbergia latifolia*
 Spesies : *Dalbergia latifolia* Roxb.

2.2 Profil Fitokimia *Dalbergia*

Senyawa metabolit sekunder tumbuhan *Dalbergia* menghasilkan senyawa golongan flavonoid, isoflavonoid, neoflavonoid, alkaloid, aril benzofuran, benzofenon dan terpenoid. *Dalbergia* merupakan satu-satunya genus tumbuhan yang menghasilkan ketiga golongan flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid sekaligus (Beldjoudi, *et al.*, 2003; Parthasarathy, *et al.*, 1976; Sripathi, *et al.*, 1994; Gregson, *et al.*, 1978; Muangnoucharoen, *et al.*, 1981).

Berdasarkan studi pustaka, senyawa metabolit sekunder yang paling banyak dikandung dalam tumbuhan *Dalbergia* adalah senyawa isoflavonoid. Senyawa golongan isoflavonoid yang terdapat pada tumbuhan ini diantaranya dari jenis isoflavon, pterokarpan, rotenoid, isoflavan dan isoflavanon (Donelly, *et al.*, 1968; Cheenpracha, *et al.*, 2009; Sripathi, *et al.*, 1994; Umehara, *et al.*, 2009). Senyawa golongan flavonoid *Dalbergia* terdistribusi pada akar, batang, kulit batang, daun, maupun bijinya. Substituen yang terikat pada inti aromatis antara lain hidroksi, metoksi, metilendioksi, isoprenil dan geranil yang membuat keragaman struktur senyawa sangat bervariasi. Kombinasi antara substituen hidroksi dengan isoprenil menghasilkan senyawa jenis piranoflavonoid, piranoisoflavonoid, furanoflavonoid, dan furanoisoflavonoid.

Tabel 2.1 Keragaman senyawa fenolik tumbuhan *Dalbergia*

Spesies	Bagian Tumbuhan	Asal	Golongan Senyawa	Pustaka
<i>D. baroni</i>	Batang	Madagaskar	Neoflavonoid	Donnelly, <i>et al.</i> , 1968; 1965
<i>D. candenatensis</i>	Batang	Thailand	Flavonoid, isoflavonoid	Cheenpracha, <i>et al.</i> , 2009; Hamburger, <i>et al.</i> , 1987
<i>D. cearensis</i>	Batang	Brasil	Isoflavonoid, benzofenon	Souza, <i>et al.</i> , 1975
<i>D. cochinchinensis</i>	Batang	Vietnam	Flavonoid, isoflavonoid, neoflavonoid, benzofuran	Shirota, <i>et al.</i> , 2003
<i>D. congesta</i>	Akar	India	Isoflavonoid	Rao, <i>et al.</i> , 2007
<i>D. congestiflora</i>	Batang	Meksiko	Isoflavonoid	Huerta, <i>et al.</i> , 2004
<i>D. coromandeliana</i>	Daun	India	Isoflavonoid, benzofenon, alkaloid	Ramesh, <i>et al.</i> , 1995; Edayadulla, <i>et al.</i> , 2012
<i>D. cochinchinensis</i>	Batang	Vietnam	Isoflavonoid	Ramesh, <i>et al.</i> , 1995
<i>D. cultrata</i>	Batang	Birma	Neoflavonoid	Donnelly, <i>et al.</i> , 1972
<i>D. decipularis</i>	Batang	Brasil	Isoflavonoid	Alencar, <i>et al.</i> , 1972
<i>D. ecastophyllum</i>	Batang	Nigeria	Isoflavonoid	Donnelly, <i>et al.</i> , 1973
<i>D. frutescens</i>	Kulit batang	Venezuela	Isoflavonoid	Khan, <i>et al.</i> , 2000
<i>D. horrida</i>	Akar	India	Isoflavonoid	Narayanan, <i>et al.</i> , 2007
<i>D. lanceolaria</i>	Akar	India	Isoflavonoid	Malhotra, <i>et al.</i> , 1967
<i>D. latifolia</i>	Biji	India	Isoflavonoid	Chibber, <i>et al.</i> , 1979
<i>D. louvelii</i>	Batang	Madagaskar	Neoflavonoid	Beldjoudi, <i>et al.</i> , 2003
<i>D. melanoxyton</i>	Batang	Mozambik	Neoflavonoid	Donnelly, <i>et al.</i> , 1975
<i>D. miscolobium</i>	Batang	Brasil	Flavonoid, isoflavonoid	Gregson, <i>et al.</i> , 1978
<i>D. monetaria</i>	Biji	Francis	Isoflavonoid	Abe, <i>et al.</i> , 1985
<i>D. nigra</i>	Daun	Brasil	Isoflavonoid	Mathias, <i>et al.</i> , 1998
<i>D. nigrescens</i>	Biji	Thailand	Isoflavonoid	Chuankhayan, <i>et al.</i> , 2007, 2005
<i>D. nitidula</i>	Batang	Rhodesia	Isoflavonoid, neoflavonoid	Bekker, <i>et al.</i> , 2002

Lanjutan Tabel 2.1

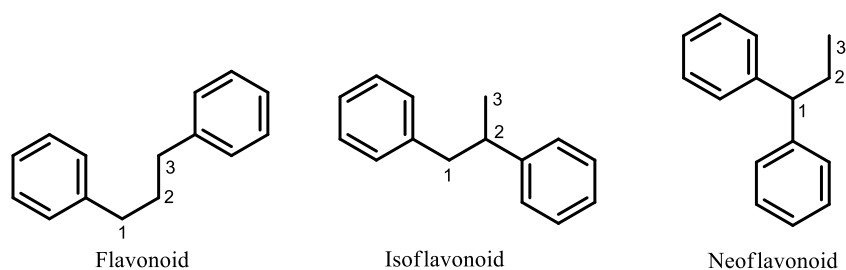
Spesies	Bagian Tumbuhan	Asal	Golongan Senyawa	Pustaka
<i>D. odorifera</i>	Akar, Batang	China	Flavonoid, isoflavonoid, neoflavonoid	Chan, <i>et al.</i> , 1997. Liu, <i>et al.</i> , 2005, Wang, <i>et al.</i> , 2014, Yu, <i>et al.</i> , 2007
<i>D. olivari</i>	Kulit batang	Thailand	Isoflavonoid	Ito, <i>et al.</i> , 2003
<i>D. oliveri</i>	Batang	Thailand	Isoflavonoid	Pluempanupat, <i>et al.</i> , 2013
<i>D. paniculata</i>	Biji	India	Isoflavonoid	Rao, <i>et al.</i> , 1991
<i>D. parviflora</i>	Batang	Thailand	Flavonoid, isoflavonoid, benzofuran	Umehara, <i>et al.</i> , 2009, 2008; Muangnoicharoen, <i>et al.</i> , 1981
<i>D. retusa</i>	Batang	Panama	Flavonoid, isoflavonoid, neoflavonoid	Gregson, <i>et al.</i> , 1978
<i>D. sericea</i>	Batang	India	Flavonod, terpenoid	Parthasarathy, <i>et al.</i> , 1976
<i>D. sissoides</i>	Kulit batang	India	Flavonoid, isoflavonoid	Sriphati, <i>et al.</i> , 1994
<i>D. sissoo</i>	Getah	Nepal	Flavonoid, neoflavonoid	Shrestha, <i>et al.</i> , 2008
<i>D. spinosa</i>	Daun	India	Isoflavonoid	Narayanan, <i>et al.</i> , 1988
<i>D. sympathetic</i>	Daun	India	Isoflavonoid	Nagarajan, <i>et al.</i> , 2006

2.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik terbesar yang ditemukan di alam dan hanya ditemukan pada dunia tumbuh-tumbuhan. Senyawa flavonoid *Dalbergia* secara biosintesis merupakan penggabungan jalur skhimat dan asetat malonat dengan prekursor asam amino tirosin, yakni ditandai adanya substituen teroksigenasi pada C-4' di cincin B. Senyawa golongan flavonoid *Dalbergia* yang sering ditemukan antara lain dari jenis flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid.

Klasifikasi kerangka dasar senyawa golongan flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid dari *Dalbergia* dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Senyawa golongan flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzena (C_6) terikat pada satu rantai propana (C_3) sehingga membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$ (Manitto, 1992). Berdasarkan susunan kerangka dasar tersebut senyawa golongan flavonoid mempunyai jenis kerangka 1,3-diarilpropan, isoflavonoid 1,2-diarilpropan, dan neoflavonoid 1,1-diarilpropan. Keragaman struktur senyawa flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid diperluas dengan adanya tambahan substituen isoprenil dan geranil. Kombinasi antara substituen hidroksi dengan isoprenil maupun geranil menghasilkan jenis pirano dan furano.

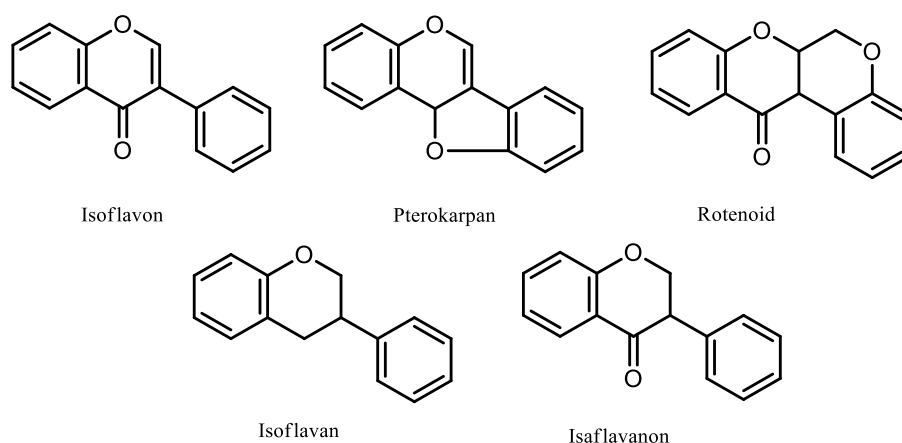


Gambar 2.1 Kerangka dasar senyawa flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid

2.4 Isoflavonoid

Isoflavonoid merupakan senyawa golongan flavonoid utama yang ditemukan pada tumbuhan *Dalbergia*. Pembentukan senyawa isoflavonoid berasal dari reaksi penataan ulang senyawa flavanon yakni migrasi cincin aromatik B dari atom C-3 ke atom C-2 menghasilkan isoflavanon. Reduksi isoflavanon di C2 dan C-3 menghasilkan senyawa isoflavan. Siklisasi antara gugus karbonil di C-3 dengan

C-2' cincin B dari isoflavon menghasilkan senyawa turunan pterokarpan (Dewick, 2009). Kerangka dasar senyawa turunan isoflavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Kerangka dasar senyawa turunan isoflavonoid

2.4.1 Isoflavon

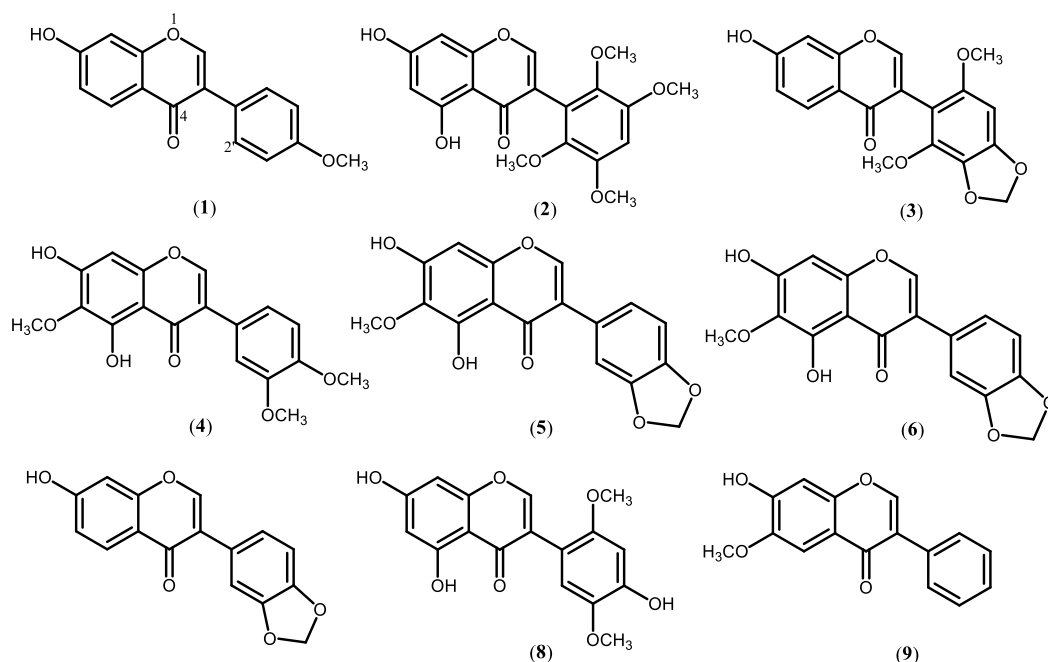
Isoflavon merupakan senyawa golongan isoflavonoid utama yang ditemukan pada tumbuhan *Dalbergia*. Senyawa isoflavonoid yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *Dalbergia* sebanyak 38 senyawa. Senyawa isoflavon tersebut mempunyai substituen hidroksil, metoksi, dan metilendioksi. Hal ini tercantum pada Tabel 2.2 dan Gambar 2.3.

Tabel 2.2 Distribusi senyawa isoflavon tumbuhan *Dalbergia*

Senyawa	Spesies	Pustaka
Formonetin (1)	<i>D. baroni</i>	Donelly, <i>et al.</i> , 1968
5,7-Dihidroksi-2',3',5',6'-tetrametoksi isoflavon (2)	<i>D. congesta</i>	Rao, <i>et al.</i> , 2007
Kuneatin (3)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Dalspinosin (4)	<i>D. horrida</i>	Narayanan, <i>et al.</i> , 2007
Dalspinin (5)	<i>D. horrida</i>	Narayanan, <i>et al.</i> , 2007
Fujikinetin (6)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Pseudobaptigenin (7)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000

Lanjutan Tabel 2.2

Senyawa	Spesies	Pustaka
Olibergin A (8)	<i>D. oliveri</i>	Ito, <i>et al.</i> , 2003
Glisitein (9)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Odoratin (10)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Kastanin (11)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Genistein (12)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Biokanin (13)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Daidzein (14)	<i>D. frutescens</i>	Khan, <i>et al.</i> , 2000
Kaiunin (15)	<i>D. nigra</i>	Mathias, <i>et al.</i> , 1998
3-Hidroksidaidzein (16)	<i>D. nigra</i>	Kite, <i>et al.</i> , 2010
3'-Metoksidaidzein (17)	<i>D. nigra</i>	Kite, <i>et al.</i> , 2010
Olibergin B (18)	<i>D. olivari</i>	Ito, <i>et al.</i> , 2003
Kaviunin (19)	<i>D. paniculata</i>	Rao, <i>et al.</i> , 1991
Panikulatin (20)	<i>D. paniculata</i>	Rao, <i>et al.</i> , 1991
Dalpanikulin (21)	<i>D. paniculata</i>	Rao, <i>et al.</i> , 1991
Kajanin (22)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Khrinone A (23)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Khrinone B (24)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Khrinone C (25)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Khrinone D (26)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Khrinone E (27)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
7-Dimetilrobustigenin (28)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Teralin (29)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
2'-Metoksibiokanin A (30)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Pratensein (31)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
2'-Metoksiformononetin (32)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Kalikosin (33)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Tektorigenin (34)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
Retusin (35)	<i>D. retusa</i>	Jurd, <i>et al.</i> , 1972
8-O-Metilretusin (36)	<i>D. retusa</i>	Gregson, <i>et al.</i> , 1978
5-Hidroksibowdikion (37)	<i>D. candenatensis</i>	Hamburger, <i>et al.</i> , 1987
Bowdikione (38)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008

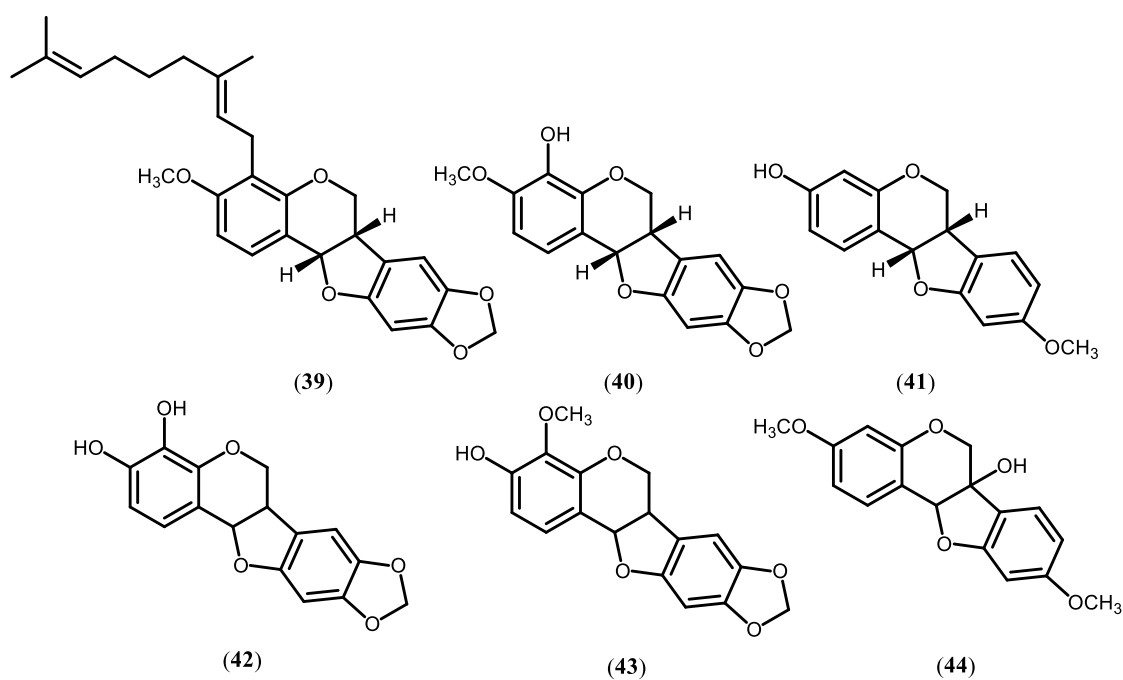
Gambar 2.3 Senyawa jenis isoflavon pada tumbuhan *Dalbergia*

2.4.2 Pterokarpan

Senyawa jenis pterokarpan merupakan oksidasi isoflavonoid yakni antara C=O karbonil dengan C-2' inti aromatik di cincin B dan diikuti dengan reaksi reduksi. Ditinjau dari struktur senyawanya, pterokarpan mempunyai dua atom C kiral di C-6a dan C-11a yang tentunya memerlukan perhatian khusus dalam penentuan struktur kimia pterokarpan. Senyawa pterokarpan umumnya mempunyai substituen hidroksi, metoksi, dan metilendioksi. Senyawa velukarpin A, B dan C merupakan senyawa jenis pterokarpan tergeranilasi (Kaennakam, *et al.*, 2015). Sampai saat ini belum ada laporan senyawa pterokarpan *Dalbergia* mempunyai substituen isoprenil. Berdasarkan studi literatur, senyawa jenis pterokarpan yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Dalbergia* berkisar 17 senyawa seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2.3 dan Gambar 2.4.

Tabel 2.3 Distribusi senyawa pterokarpan tumbuhan *Dalbergia*

Senyawa	Spesies	Pustaka
Nitidukol (39)	<i>D. candenatensis</i>	Cheenpracha, <i>et al.</i> , 2009
4-Hidroksi-3-metoksi-8,9-metilenedioksipterokarpan (40)	<i>D. candenatensis</i>	Cheenpracha, <i>et al.</i> , 2009
Medikarpan (41)	<i>D. congestiflora</i>	Martinez, <i>et al.</i> , 2012
(-)-3,4-Dihidroksi-8,9-metilendioksipterokarpan (42)	<i>D. spruceana</i>	Cook, <i>et al.</i> , 1978
(-)-3-Hidroksi-4-metoksi-8,9-metilendioksipterokarpan (43)	<i>D. spruceana</i>	Cook, <i>et al.</i> , 1978
(+)-Variabilin (44)	<i>D. variabilis</i>	Kurosawa, <i>et al.</i> , 1978
3,8-Dihidroksi-9-metoksipterokarpan (45)	<i>D. parviflora</i>	Songsang, <i>et al.</i> , 2011
4-Hidroksi medikarpan (46)	<i>D. velutina</i>	Kaennakam, <i>et al.</i> , 2015
3,8-Dihidroksi-9-metoksipterokarpan (47)	<i>D. velutina</i>	Kaennakam, <i>et al.</i> , 2015
3,9-Trimetoksipterokarpan (48)	<i>D. odorifera</i>	Wang, <i>et al.</i> , 2014
3-Hidroksi-6a,9-dimetoksipterokarpan (49)	<i>D. odorifera</i>	Wang, <i>et al.</i> , 2014
Melilotokarpan A (50)	<i>D. odorifera</i>	Wang, <i>et al.</i> , 2014
Melilotokarpan D (51)	<i>D. odorifera</i>	Wang, <i>et al.</i> , 2014
Vestikarpan (52)	<i>D. odorifera</i>	Wang, <i>et al.</i> , 2014
Velukarpan A (53)	<i>D. velutina</i>	Kaennakam, <i>et al.</i> , 2015
Velukarpan B (54)	<i>D. velutina</i>	Kaennakam, <i>et al.</i> , 2015
Velukarpan C (55)	<i>D. velutina</i>	Kaennakam, <i>et al.</i> , 2015

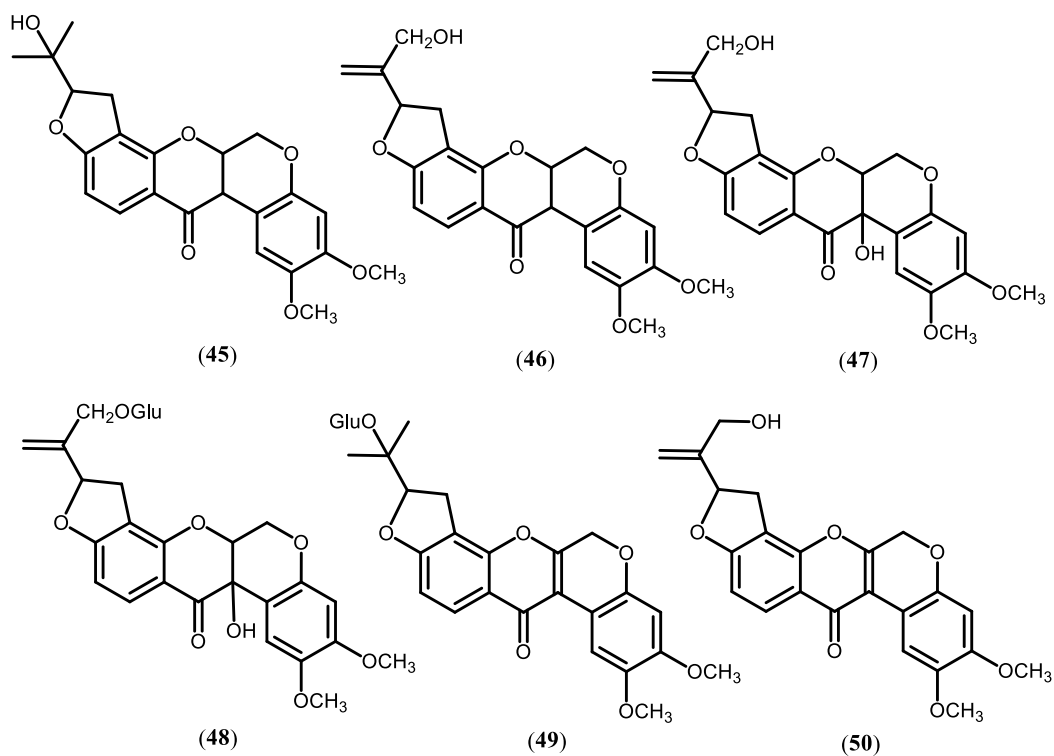
Gambar 2.4 Senyawa jenis pterokarpan pada tumbuhan *Dalbergia*

2.4.3 Rotenoid

Berdasarkan literatur, senyawa jenis rotenoid yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Dalbergia* sebanyak 6 senyawa seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2.4 dan Gambar 2.5. Substituen yang dijumpai adalah hidroksi dan metoksi.

Tabel 2.4 Distribusi senyawa rotenoid tumbuhan *Dalbergia*

Senyawa	Spesies	Pustaka
Dalpanol (45)	<i>D. paniculata</i>	Adinarayana, <i>et al.</i> , 1972
Amorphigenin (46)	<i>D. latifolia</i>	Chibber, <i>et al.</i> , 1978
Dalbinol (47)	<i>D. latifolia</i>	Chibber, <i>et al.</i> , 1978
Dalbin (48)	<i>D. latifolia</i>	Chibber, <i>et al.</i> , 1979
Dehidrodalpanol <i>O</i> -glukosida (49)	<i>D. paniculata</i>	Rao, <i>et al.</i> , 1991
6-Ketodehidroamorfigenin (50)	<i>D. sissooides</i>	Sripathi, <i>et al.</i> , 1994

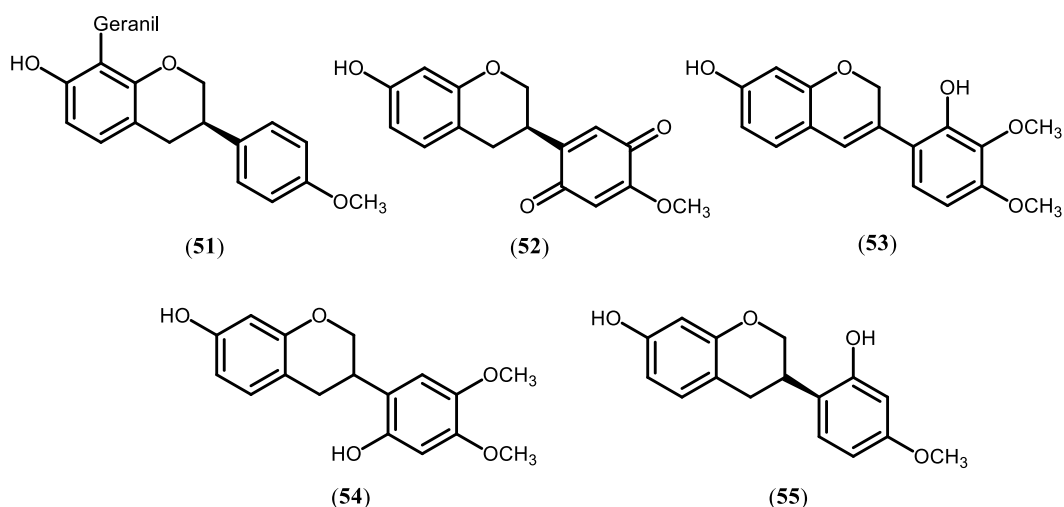
Gambar 2.5 Senyawa jenis rotenoid pada tumbuhan *Dalbergia*

2.4.4 Isoflavan

Senyawa jenis isoflavan yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Dalbergia* sebanyak 5 senyawa. Substituen yang banyak dijumpai diantaranya adalah hidroksi, metoksi dan geranil. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.5 dan Gambar 2.6.

Tabel 2.5 Distribusi senyawa isoflavan tumbuhan *Dalbergia*

Senyawa	Spesies	Pustaka
Candatenin F (51)	<i>D. candenatensis</i>	Cheenpracha, <i>et al.</i> , 2009
(R)-(-)-Klausekuinon (52)	<i>D. candenatensis</i>	Hamburger, <i>et al.</i> , 1987
Odoriflaven (53)	<i>D. odorifera</i>	Yu, <i>et al.</i> , 2007
5'-Metoksi vestitol (54)	<i>D. odorifera</i>	Yu, <i>et al.</i> , 2007
(3R)-Vestitol (55)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009

Gambar 2.6 Senyawa jenis isoflavan pada tumbuhan *Dalbergia*

2.4.5 Isoflavanon

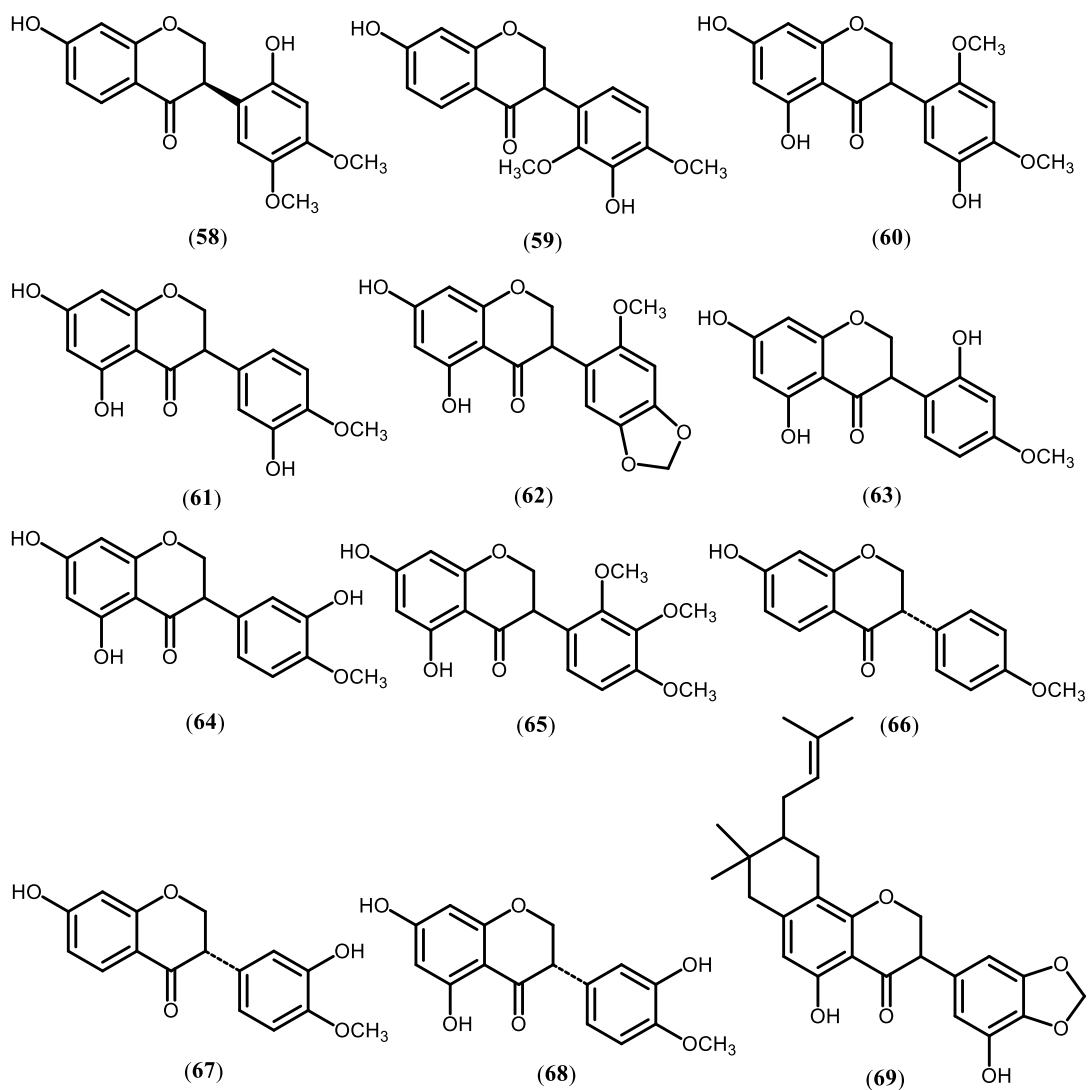
Berdasarkan studi literatur, senyawa jenis isoflavanon yang berhasil diisolasi dari tumbuhan *Dalbergia* bekisar 15 senyawa seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2.6 dan Gambar 2.7. Substituen yang dijumpai adalah hidroksi, metoksi dan isoprenil.

Tabel 2.6 Distribusi senyawa isoflavanon tumbuhan *Dalbergia*

Senyawa	Spesies	Pustaka
(3R)-7,2'-Dihidroksi-4',5'-dimetoksiisoflavanon (58)	<i>D. louvelii</i>	Beldjoudi, <i>et al.</i> , 2003
Violanon (59)	<i>D. oliveri</i>	Pleumpanupat, <i>et al.</i> , 2013
Dalparvin A (60)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
Kenusanon (61)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2008
(3R,3S)-Onogenin (62)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
(3R,3S)-Vestiton (63)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
(3R,3S)-7,3'-Dihidroksi-4'-metoksiisoflavanon (64)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
(3R,3S)-3-O-Metilviolanon (65)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
(3S)-Sativanon (66)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
(3S)-Violanon (67)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
(3S)-Secundiflorol H (68)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
Dalhorridin (69)	<i>D. horrida</i>	Narayanan, <i>et al.</i> , 2007

Lanjutan Tabel 2.6

Senyawa	Spesies	Pustaka
Dalhorridinin (70)	<i>D. horrida</i>	Narayanan, <i>et al.</i> , 2007
Dalparvin B (71)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009
Dalparvin C (72)	<i>D. parviflora</i>	Umehara, <i>et al.</i> , 2009

Gambar 2.7 Senyawa jenis isoflavanon pada tumbuhan *Dalbergia*

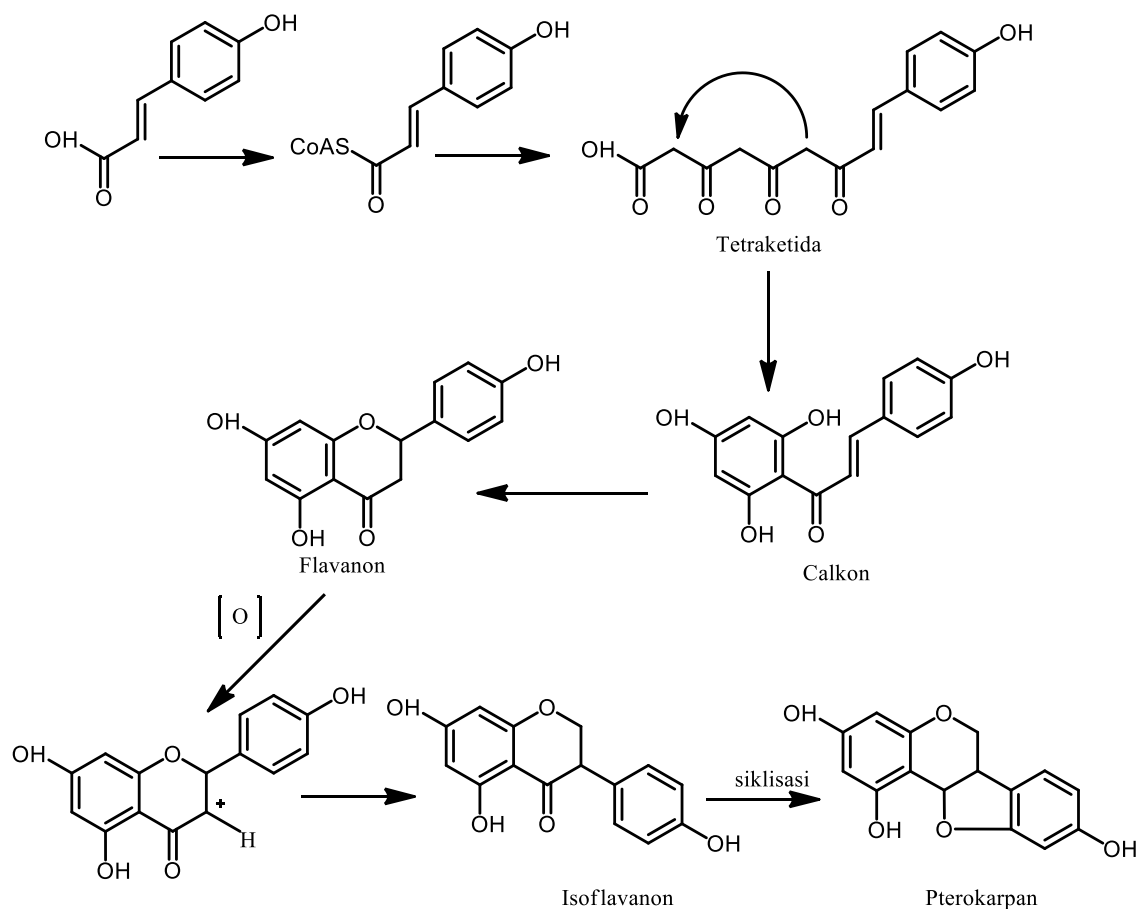
2.5 Biosintesis Senyawa Pterokarpan

Biosintesis senyawa pterokarpan pada prinsipnya berasal dari biosintesis flavonoid, yakni penggabungan jalur skimat unit C₆-C₃ dengan asetat malonat

menghasilkan unit kerangka $C_6-C_3-(C_2+C_2+C_2)$. Berdasarkan struktur flavonoid tersebut, cincin A berasal dari jalur asetat malonat, sedangkan cincin B dan tiga atom karbon dari rantai propan berasal dari jalur skhimat.

Selanjutnya cincin A melalui reaksi keto-enol secara enzimatik menghasilkan gugus hidroksi yang selang seling. Dengan demikian oksigenasi di cincin A satu sama lainnya berada dalam posisi *meta*. Penggabungan jalur skhimat dan asetat malonat menghasilkan tetraketida sebagai intermediat membentuk senyawa flavonoid. Reaksi kondensasi tetraketida pada senyawa flavonoid menghasilkan senyawa kalkon. Siklisasi senyawa kalkon melalui enzim isomerase menghasilkan senyawa flavanon. Selanjutnya senyawa flavanon melalui reaksi penataan ulang atau reaksi oksidasi menghasilkan berbagai jenis golongan flavonoid seperti turunan isoflavanon, flavon, flavonol, dihidroflavonol, dan sebagainya. Penataan ulang senyawa turunan flavanon melalui pembentukan karbokation di C-3 mengakibatkan migrasi aromatik dari C-3 ke C-2 menghasilkan senyawa isoflavanon. Siklisasi antara gugus karbonil $C=O$ dengan aromatik di C-2' menghasilkan senyawa turunan pterokarpan.

Selanjutnya, sebagai akibat dari berbagai perubahan yang disebabkan oleh enzim, senyawa flavonoid termasuk senyawa pterokarpan mengalami reaksi sekunder menghasilkan berbagai gugus fungsi, seperti ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil, dan sebagainya. Adapun jalur biosintesis flavonoid membentuk pterokarpan tercantum pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Biosintesis senyawa pterokarpan

2.6 Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Pterokarpan

Ekstraksi senyawa pterokarpan umumnya dilakukan menggunakan pelarut semi polar seperti diklorometan, kloroform atau etilasetat. Proses ekstraksi senyawa pterokarpan *Dalbergia* umumnya dilakukan pada suhu kamar (Cheenpracha, *et al.*, 2009; Alencar *et al.*, 1972). Selanjutnya, pemisahan dan pemurnian senyawa pterokarpan menggunakan metode kromatografi seperti kolom kromatografi dan kromatografi radial (Kaennakam, *et al.*, 2015). Proses ekstraksi, dan isolasi senyawa pterokarpan *Dalbergia* tercantum pada Tabel 2.7.

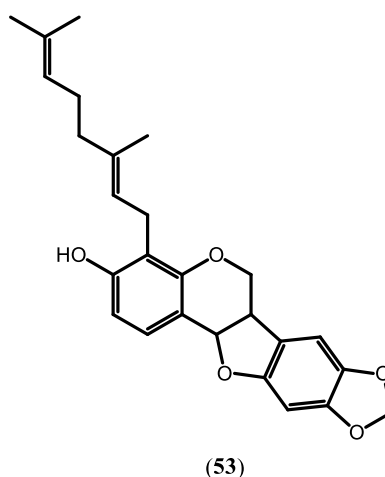
Tabel 2.7 Ekstraksi dan isolasi senyawa pterokarpan *Dalbergia*

Spesies	Ekstrak atau partisi	Pustaka
<i>D. candenatensis</i>	Ekstraksi dengan diklorometana dan pemisahan dengan kolom kromatografi tekan	Cheenpracha, <i>et al.</i> , 2009
<i>D. decipularis</i>	Ekstraksi dengan aseton dan pemisahan dengan kolom kromatografi	Alencar <i>et al.</i> , 1972
<i>D. odorifera</i>	Ekstraksi dengan etanol kemudian partisi dengan <i>n</i> -heksana, etilasetat dan butanol. Pemisahan ekstrak etilasetat yang mengandung pterokarpan menggunakan kolom kromatografi	Wang, <i>et al.</i> , 2014
<i>D. velutina</i>	Ekstraksi dengan diklorometana selanjutnya pemisahan dengan kolom kromatografi dan kromatografi radial	Kaennakam, <i>et al.</i> , 2015

2.7 Analisis Spektroskopi Senyawa Pterokarpan

Struktur molekul senyawa turunan pterokarpan *Dalbergia* ditetapkan berdasarkan metode spektroskopi seperti spektrum ultraviolet (UV), inframerah (IR), *nuclear magnetic resonance* (NMR) dan spektroskopi massa (MS). Spektroskopi NMR merupakan spektroskopi yang paling memegang peranan penting dalam penentuan struktur molekul senyawa organik yang akan dianalisis.

Dalam subbab ini akan dibahas analisis spektroskopi senyawa pterokarpan velukarpin A (Kaennakam, *et. al.*, 2015). Struktur senyawa velukarpin A dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Struktur senyawa velukarpin A

Spektrum UV senyawa velukarpin A (**53**) dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} 270 dan 327 nm. Spektrum HRESIMS (*high resolution electron impact mass spectra*) memperlihatkan ion molekul pada m/z 443,1838 $[M+Na]^+$ dengan rumus molekul $C_{26}H_{28}O_5Na$ yang sesuai dengan struktur molekul velukarpin A.

Spektrum IR dalam identifikasi senyawa organik berguna untuk menentukan gugus fungsi senyawa. Spektrum IR senyawa velukarpin A (**53**) memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang ν_{maks} :3645 cm^{-1} yang merupakan ciri khas gugus hidroksi -OH, 1624 cm^{-1} untuk C=C aromatik dan 1145 cm^{-1} untuk C-O-C eter.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa velukarpin A (**53**) dalam CDCl_3 (400 MHz) memperlihatkan empat sinyal proton pada pergeseran kimia δ_{H} (ppm) yakni sinyal *triplet* pada δ_{H} 3,66 ($J = 10,1$ Hz); sinyal *doublet doublet* pada δ_{H} 4,30 ($J = 10,1$; 4,8 Hz); sinyal *multiplet* pada δ_{H} 3,49 dan sinyal *doublet* pada δ_{H} 5,52 ($J = 7,2$ Hz) merupakan ciri khas dari kerangka struktur senyawa pterokarpan pada H-6, H-6a dan H-11a.

Dua sinyal *singlet* proton aromatik pada δ_H 6,75 dan 6,48 ppm serta sepasang sinyal *doublet ortho* proton aromatik dengan ($J=8,4$ Hz) pada δ_H 7,27 dan 6,57 ($J=8,4$) ppm merupakan sinyal proton aromatik senyawa velukarpin A (**53**).

Sinyal proton metilendioksi mempunyai multiplisitas *doublet* ($J= 1,2$ Hz) pada δ_H 5,94 dan 5,92 ppm. Sinyal proton geranil pada velukarpin A (**53**) terdiri dari dua sinyal proton olefin pada δ_H 5,28 dan 5,11 ppm, tiga sinyal metilen pada δ_H 3,46; 2,13 dan 2,08 ppm dan tiga sinyal singlet metil pada δ_H 1,84 , 1,72, dan 1,63 ppm (Kaennakam, *et. al.*, 2015).

2.8 Bioaktivitas Senyawa Fenolik *Dalbergia*

Senyawa-senyawa fenolik khususnya flavonoid pada *Dalbergia*, sebagian telah diuji aktivitasnya sebagai antioksidan, antifungi, antikanker, antiandrogenik, antiigiardial, antidiare, analgesik, antiinflamasi, antitumor dan anti-TBC. Hasil uji aktivitas tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.8

Tabel 2.8 Distribusi bioaktivitas senyawa fenolik tumbuhan *Dalbergia*

Spesies	Golongan	Uji Aktivitas	Pustaka
<i>D. candenatensis</i>	Flavonoid	Antifungi, antikanker	Hamburger, <i>et al.</i> , 1987; Cheenpracha, <i>et al.</i> , 2009
<i>D. cochinchinensis</i>	Flavonoid	Antiandrogenik	Pathak, <i>et al.</i> , 1997
<i>D. congestiflora</i>	Flavonoid	Antifungi	Martinez, <i>et al.</i> , 2012
<i>D. frutescens</i>	flavonoid	Antigiardial	Khan, <i>et al.</i> , 2000
<i>D. lanceolaria</i>	Flavonoid	Antidiare, analgesik, antiinflamasi	Kale, <i>et al.</i> , 2007
<i>D. odorifera</i>	Flavonoid	Antioksidan, antikanker, antitumor	Cheng, <i>et al.</i> , 1998; Yu, <i>et al.</i> , 2007; Wang, <i>et al.</i> , 2014
<i>D. parviflora</i>	Flavonoid	Antikanker	Umehara, <i>et al.</i> , 2009; Songsiang, <i>et al.</i> , 2011
<i>D. melanoxylon</i>	Flavonoid	Anti-TBC	Mutai, <i>et al.</i> , 2013

2.9 Tinjauan tentang HIV

HIV (*human immunodeficiency virus*) merupakan jenis virus yang menyerang sel darah putih (sel limfosit) dan menyebabkan sistem imun berkurang. Virus ini juga dapat menimbulkan penyakit AIDS (*acquired immuno deficiency syndrome*). Pengobatan yang sering digunakan untuk pasien HIV antara lain inhibitor *nucleoside reverse transcriptase*, inhibitor *non-nucleoside reverse transcriptase* dan penghambat protease. HIV protease sebagai target utama terapi anti-HIV (Sharma, *et al.*, 2014).

Reverse transcriptase merupakan jenis enzim yang berfungsi mengubah RNA virus menjadi DNA yang kemudian diintegrasikan ke dalam sel limfosit dan mengkopinya menjadi virus baru. HIV menyerang sistem imun manusia yakni menyerang sel limfosit T *helper* yang memiliki reseptor CD4 dipermukaannya. Limfosit T *helper* berfungsi menghasilkan zat kimia yang berperan sebagai perangsang pertumbuhan dan pembentukan sel-sel lain dalam sistem imun dan antibodi. Oleh karena itu, ketika virus HIV menyerang sel limfosit T *helper* maka yang terganggu bukan hanya fungsi limfosit T tetapi juga limfosit B, monosit, makrofag, dan merusak sistem imunitas (Jayanti, 2008).

Pengobatan yang selama ini dilakukan untuk pengidap virus HIV adalah dengan terapi antiretroviral (ARV) dengan obat-obatan. Obat yang digunakan dapat memperlambat pertumbuhan virus dan meningkatkan atau mempertahankan fungsi imun. Dengan demikian, waktu pertumbuhan virus diperlambat serta penyebaran penyakit HIV dapat ditekan. Setiap golongan obat ARV menyerang HIV dengan cara yang berbeda. Golongan obat ARV yang pertama adalah *nucleoside reverse*

transcriptase inhibitor (NRTI) atau disebut juga analog nukleosida. Obat NRTI bekerja dengan cara menghambat kerja enzim *reverse transcriptase* yang dapat mengubah kode genetik HIV, yakni RNA virus menjadi DNA. Obat yang kedua adalah *Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor* (NNRTI) yang spesifik dalam menghambat enzim *reverse transcriptase* HIV-1 (Hunter, *et al.*, 2007). Obat yang ketiga adalah *protease inhibitor* (PI) yang bekerja dengan cara menghambat pematangan virus baru oleh enzim protease, sehingga akan terbentuk partikel virus yang tidak dapat menginfeksi. Obat golongan ARV yang keempat adalah *entry inhibitor* yang dibagi menjadi *attachment inhibitor*, *coreceptor antagonist*, dan *fusion inhibitor* (Bakty, 2010).

Berdasarkan studi literatur, sampai saat ini belum pernah dilaporkan senyawa pterokarpan yang menghambat virus HIV-1 dari genus *Dalbergia*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2015-Mei 2016 di Laboratorium Penelitian, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya. Analisis spektroskopi UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya. Analisis spektroskopi massa dilakukan di Laboratorium *Basic Science*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung, Bandung. Analisis spektroskopi IR dilakukan di Laboratorium Instrumen, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung. Analisis spektroskopi NMR dan uji aktivitas anti-HIV dilakukan di Laboratorium *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga, Surabaya.

3.2 Sampel dan Bahan Penelitian

3.2.1 Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. yang diperoleh dari Desa Purwodadi, Kecamatan Purwosari, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Identifikasi tumbuhan ditentukan di Herbarium Kebun Raya LIPI Purwodadi.

3.2.2 Bahan penelitian

Pelarut yang digunakan untuk keperluan ekstraksi berasal dari kualitas teknis yang sudah didestilasi dan kualitas pro analisis untuk pemurnian dan analisis seperti metanol, *n*-heksana, etilasetat, kloroform, diisopropileter, dan aseton. Fasa diam yang digunakan dalam pemisahan dan pemurnian adalah silika gel 60 G₂₅₀ untuk keperluan KCV dan kromatografi kolom tekan, plat silika gel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm (Merck) untuk keperluan kromatografi lapis tipis (KLT), serta silika gel 60 PF₂₅₄ untuk keperluan kromatografi radial. Pereaksi yang digunakan untuk penampak noda ialah pereaksi cerium sulfat, anisaldehyda dan lampu UV. Sel yang digunakan untuk uji aktivitas anti-HIV adalah HIV-1 *presistenly infected* MT4 sedangkan sel limfosit yang digunakan adalah sel T MOLT4. Bahan yang digunakan dalam pembuatan kultur sel dan virus diantaranya adalah media RPMI 1640 dengan ditambahkan *fetal bovine serum* (FBS) dan natrium bikarbonat. Pereaksi yang digunakan adalah *trypan* biru..

3.3 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat destilasi, *rotary vacuum evaporator*, KCV, kromatografi kolom gravitasi, kromatografi radial, pipet mikro, kuvet mikro, lampu UV serta alat gelas yang umum. Peralatan spektrofotometer antara lain spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800, spektrofotometer FTIR Perkin Elmer, spektrometer HR-ESI-MS merck Waters LCT XE ESI-TOF (*electro spray ionization-time of flight*), serta spektrofotometer NMR JEOL ECA 400 yang beroperasi pada 400 MHz (¹H-NMR) dan 100 MHz

(^{13}C -NMR). Peralatan yang digunakan untuk uji anti-HIV adalah 96 *well plate*, tabung T75 dan hemositometer.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Ekstraksi dan pemurnian senyawa

Kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. sebanyak 5,0 kg dikeringkan dan digiling hingga berbentuk serbuk. Serbuk kulit batang tumbuhan diekstraksi dengan metanol selama 24 jam pada suhu kamar dengan cara maserasi. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan ekstrak metanol pekat.

Ekstrak metanol pekat tersebut diekstraksi dengan cara partisi menggunakan *n*-heksana dan menghasilkan dua lapisan yakni lapisan atas (ekstrak *n*-heksana) dan lapisan bawah (ekstrak metanol). Selanjutnya ekstrak *n*-heksana yang mengandung senyawa non polar yang dapat mengganggu dalam proses pemisahan senyawa target dipisahkan. Ekstrak metanol 450 mL kemudian ditambah air sebanyak 50 mL dan dipartisi dengan etilasetat. Ekstrak etilasetat hasil partisi mengandung senyawa pterokarpan yang jadi target penelitian dan senyawa fenolik lainnya. Monitoring senyawa pterokarpan dalam ekstrak etilasetat dapat diketahui dengan pereaksi anisaldehid yakni ditandai adanya warna merah pekat dan berfluoresensi di bawah lampu UV.

Ekstrak etilasetat sebelum dilakukan proses pemisahan dengan KCV, terlebih dahulu dilakukan analisis KLT untuk mengetahui kondisi eluen yang terbaik dalam pemisahan KCV. Pemisahan ekstrak etilasetat dengan KCV dilakukan menggunakan campuran eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara

gradien dengan campuran 9:1, 4:1, 7:3, 1:1 dan 3:7. Hasil elusi ini akan menghasilkan beberapa fraksi utama dan selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom cepat yang dimonitoring dengan pereaksi anisaldehyd. Pemurnian senyawa pterokarpan dilakukan menggunakan kromatografi radial dan dilakukan analisis kemurnian dengan KLT dengan eluen yang berbeda, minimal menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Senyawa dianggap murni jika memperlihatkan satu noda dengan berbagai eluen.

3.4.2 Penentuan struktur molekul senyawa hasil isolasi

Penentuan struktur molekul senyawa hasil isolasi ditentukan dengan analisis spektroskopi ultraviolet (UV), inframerah (IR), *mass spectra* (MS) dan *nuclear magnetic resonance* (NMR).

Pengukuran spektrum UV senyawa pterokarpan hasil isolasi dalam metanol dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dan pola serapan inti aromatik pterokarpan.

Pengukuran spektrum IR dalam KBr dilakukan untuk menentukan gugus fungsi senyawa pterokarpan. Senyawa pterokarpan dalam KBr dibuat dalam bentuk pelet. Pelet tersebut diukur pita serapannya berdasarkan bilangan gelombang (ν_{maks}) senyawa pterokarpan.

Pengukuran spektrum MS dilakukan untuk menentukan massa relatif M_r dan rumus molekul senyawa pterokarpan hasil isolasi menggunakan HR-ESI-MS. Senyawa pterokarpan hasil isolasi dilarutkan dengan campuran air:asam formiat (1:1) melalui percobaan ionisasi kuasi molekul positif menghasilkan ion pada m/z

$[M+H]^+$ atau percobaan ionisasi kuasi molekul negatif menghasilkan ion pada m/z $[M-H]^-$.

Pengukuran NMR dapat dilakukan dengan cara satu dimensi 1D NMR dan dua dimensi 2D NMR. Analisis 1D NMR meliputi pengukuran ^1H dan ^{13}C -NMR untuk pengukuran proton dan karbon. Daerah pengukuran pergeseran kimia ^1H -NMR adalah pada δ_{H} 0-14 ppm, sedangkan daerah pengukuran pergeseran kimia ^{13}C -NMR adalah pada δ_{C} 0-220 ppm. Pelarut yang digunakan dalam pengukuran NMR menggunakan CDCl_3 yang diketahui pergeseran kimianya pada δ_{H} 7,26 ppm untuk proton dan δ_{C} 77,0 ppm untuk karbon. Pengukuran spektrum 2D NMR senyawa pterokarpan dengan menggunakan pengukuran HMQC dan HMBC dengan tujuan untuk justifikasi substituen yang terikat pada inti aromatik pterokarpan. Analisis spektrum HMQC berguna untuk mengetahui korelasi antara proton dan karbon dalam satu ikatan, sedangkan analisis spektrum HMBC berguna untuk mengetahui korelasi antara proton dan karbon dalam dua atau tiga ikatan.

3.4.3 Penentuan aktivitas anti-HIV-1

3.4.3.1 Penyiapan kultur

Kultur sel limfosit T MOLT-4 dan virus HIV-1 MT4 dibiakkan dalam media RPMI-1640 yang mengandung 10% *fetal bovine serum* dan 1% natrium bikarbonat. Pemisahan *pellet* dan supernatan dalam tabung berisi 5 mL RPMI dilakukan dengan cara *sentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm. *Pellet* yang terbentuk selanjutnya ditransfer ke dalam tabung T75 yang telah berisi 15 mL RPMI. Kemudian dilakukan penghitungan konsentrasi sel dan virus menggunakan pereaksi *trypan* biru.

3.4.3.2 Penentuan aktivitas anti-HIV

Uji aktivitas anti-HIV dilakukan menggunakan uji *syncytia*. Senyawa uji ditempatkan dalam 96 *well plate* dengan kontrol negatif berupa media RPMI-1640 ditambah sel HIV-1 MT4 dan sel T MOLT-4 serta senyawa uji. Konsentrasi senyawa uji yang digunakan diantaranya 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,54 dan 0,78 ppm. Sel HIV-1 MT4 sebanyak 50 μ L ditambahkan ke dalam well yang mengandung 20.000 sel/well. Sel tersebut kemudian diinkubasi dengan karbondioksida. Setelah 2 jam, ditambahkan 50 μ L sel T MOLT-4 dan dalam setiap well mengandung 400.000 sel. Sel diinkubasi selama 7 hari dengan karbondioksida kemudian dilakukan observasi sel dan menghitung pembentukan *syncytia* untuk mendapatkan nilai IC₅₀.

3.4.3.3 Analisis data

Analisis data untuk menentukan nilai konsentrasi daya hambat IC₅₀ senyawa pterokarpan hasil isolasi dalam berbagai konsentrasi diamati melalui menghitung pembentukan *syncytia* (sel tunggal yang memiliki beberapa inti karena fusi sel atau pembelahan inti). Jumlah *syncytia* ini kemudian digunakan untuk menghitung persentase hambatan menggunakan rumus berikut :

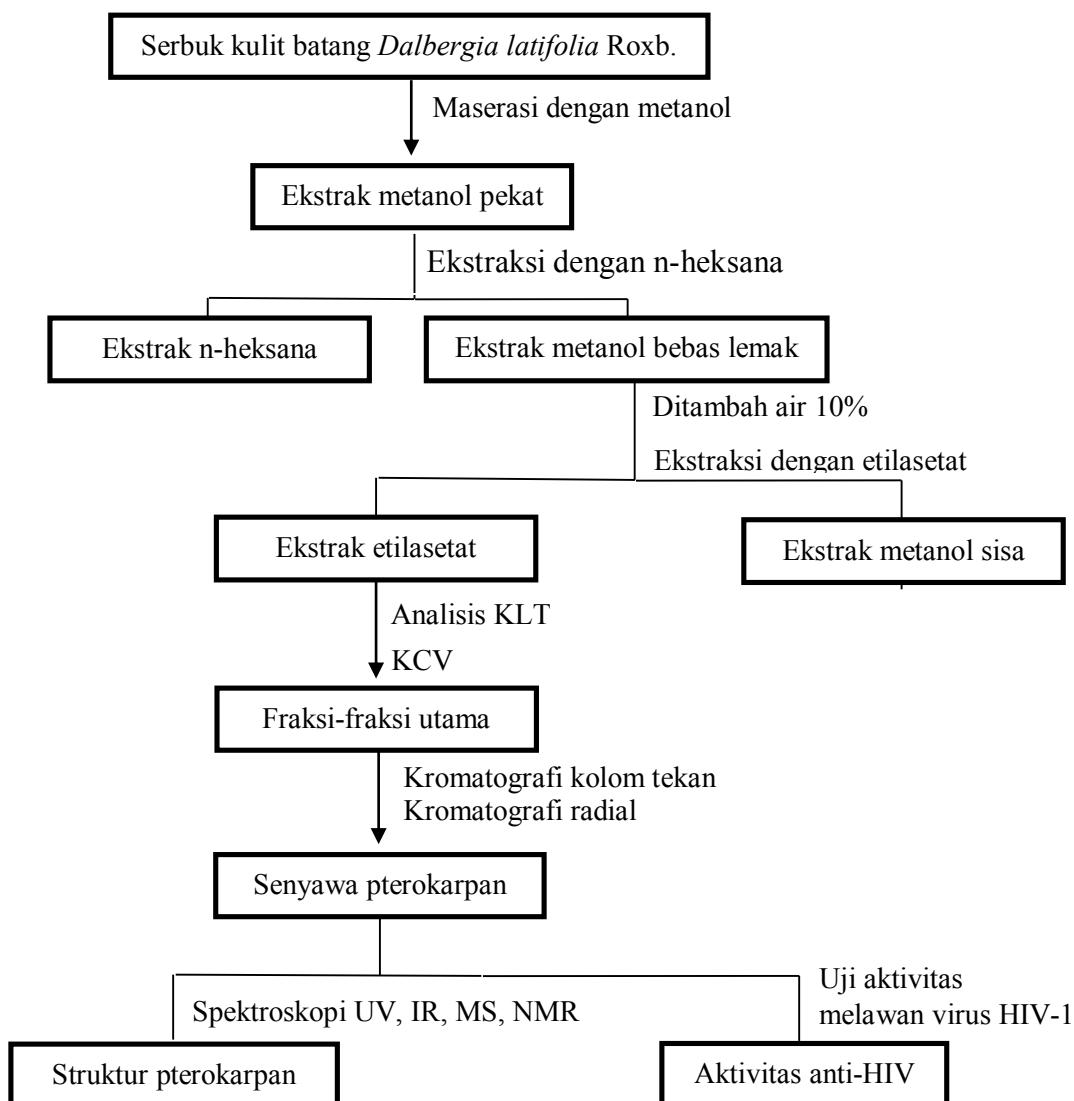
$$\% \text{ Hambatan} = \frac{(a - b)}{a} \times 100 \%$$

Dengan ketentuan a adalah jumlah *syncytia* pada kontrol negatif dan b adalah jumlah *syncytia* pada senyawa uji.

Berdasarkan data persentase hambatan setiap konsentrasi tersebut, dihitung nilai IC_{50} (konsentrasi senyawa uji yang dapat menghambat pertumbuhan virus HIV-1 sebesar 50%) dengan fungsi *forecast* pada aplikasi *microsoft excel*.

3.5 Diagram Alir Penelitian

Berikut adalah diagram alir penelitian:



Gambar 3.1. Diagram alir penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi dan Pemurnian Senyawa Fenolik

Ekstraksi senyawa pterokarpan dan isoflavan yang terkandung dalam serbuk kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. sebanyak 3,0 kg menggunakan metode ekstraksi padat-cair yakni maserasi dengan pelarut metanol pada suhu kamar. Proses maserasi ini dilakukan sebanyak dua kali dalam 48 jam. Hasil ekstraksi diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak metanol pekat. Ekstrak metanol pekat yang diperoleh diekstraksi dengan metode ekstraksi cair-cair secara partisi dengan pelarut *n*-heksana untuk menghilangkan lemak dan senyawa-senyawa non polar yang mengganggu analisis. Hasil partisi tersebut menghasilkan dua lapisan yakni lapisan atas adalah fraksi mengandung senyawa non polar dan lapisan bawah adalah fraksi polar yang mengandung senyawa fenolik. Ekstrak metanol ditambahkan dengan air 10% kemudian dipartisi dengan etilasetat. Ekstraksi tersebut menghasilkan dua lapisan diantaranya lapisan bawah berupa ekstrak metanol-air dan lapisan atas merupakan fraksi semipolar. Pelarut etil asetat dari fraksi semipolar diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat etilasetat sebanyak 25 g yang mengandung senyawa pterokarpan dan isoflavan.

Ekstrak etil asetat, sebelum dilakukan pemisahan dengan kromatografi cair vakum (KCV) terlebih dahulu dilakukan analisis kromatografi lapis tipis untuk menentukan kompleksitas senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut serta untuk menentukan eluen yang tepat dalam pemisahan.

Pemisahan ekstrak etilasetat (24 g) dengan KCV menggunakan eluen *n*-heksana : etilasetat yang ditingkatkan secara gradien dengan perbandingan 9:1; 8:2; 7:3; 1:1; dan 3:7 menghasilkan tiga fraksi utama yaitu fraksi A-C.

Fraksi A sebanyak 796 mg memperlihatkan noda merah dengan pereaksi anisaldehyda yang merupakan ciri khas senyawa pterokarpan untuk target pemisahan dan pemurnian. Pemisahan menggunakan kromatografi kolom tekan terhadap fraksi A dengan campuran eluen *n*-heksana : etilasetat (9:1 sampai 7:3) menghasilkan empat subfraksi utama yakni A₁-A₄. Pemisahan dan pemurnian subfraksi A₃ (216,8 mg) menggunakan kromatografi radial dengan eluen *n*-heksana : aseton (9,5:0,5 sampai 7:3) menghasilkan senyawa murni pterokarpan DL₁ sebanyak 10,2 mg berwujud padatan putih.

Pemisahan fraksi C sebanyak 1652 mg menggunakan kromatografi kolom tekan dengan campuran eluen *n*-heksana : etilasetat (9:1 sampai 7:3) menghasilkan dua subfraksi C₁ dan C₂. Pemisahan subfraksi C₁ menggunakan kromatografi radial dengan eluen *n*-heksana : etilasetat (9,5 : 0,5 sampai 8:2) menghasilkan subfraksi C₁₁, C₁₂ dan C₁₃. Pemurnian fraksi C₁₂ menggunakan kromatografi radial dengan campuran eluen *n*-heksana : kloroform (1:1) sampai kloroform 100% menghasilkan senyawa murni isoflavan DL₂ sebanyak 4,0 mg berwujud padatan putih.

Uji kemurnian senyawa pterokarpan DL₁ dengan analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda yakni campuran *n*-heksana : aseton (8,5:1,5), *n*-heksana : kloroform (1:1) dan *n*-heksana : eter (8:2) memperlihatkan spot tunggal. Uji kemurnian senyawa DL₂ dengan analisis KLT menggunakan eluen yang berbeda yakni kloroform : metanol (9,5:0,5), kloroform : etilasetat (9:1) dan

n-heksana : etilasetat (1:1) memperlihatkan spot tunggal. Senyawa pterokarpan DL₁ mempunyai titik leleh sebesar 132-133°C. Senyawa DL₂ tidak diukur titik lelehnya karena jumlahnya yang sedikit.

Senyawa pterokarpan hasil isolasi DL₁ dan isoflavan DL₂ selanjutnya ditentukan struktur molekulnya menggunakan spektroskopi UV, HRESIMS, 1D dan 2D NMR serta uji aktivitas anti-HIV.

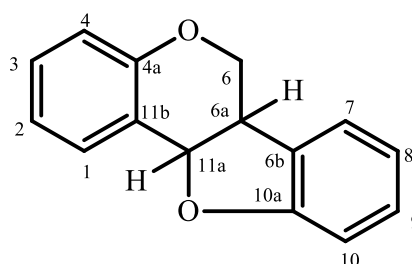
4.2 Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi

4.2.1 Senyawa medikarpin (DL₁)

Senyawa DL₁ hasil isolasi berwujud padatan berwarna putih mempunyai titik leleh sebesar 132-133°C. Spektrum UV senyawa DL₁ dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} nm (log ϵ): 231 (4,40); 267 (3,89); 281sh (4,32); 286 (4,36) yang merupakan ciri khas senyawa turunan pterokarpan (Maekawa, *et al.*, 1970). Analisis spektrum UV senyawa DL₁ hasil isolasi dapat dilihat pada Lampiran-1.

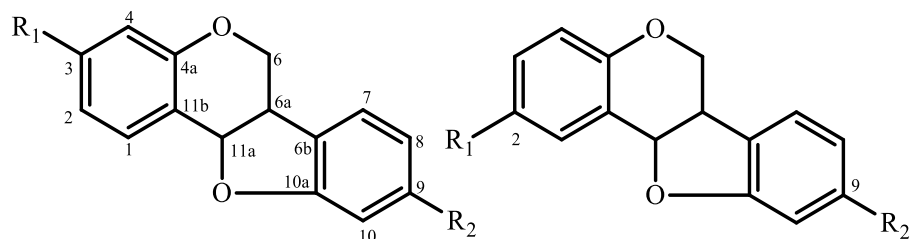
Spektrum IR senyawa DL₁ hasil isolasi dalam KBr memperlihatkan pita serapan bilangan gelombang maksimum ν_{maks} (cm⁻¹) pada 3437 (vibrasi ulur O-H), 2920 dan 2851 (vibrasi ulur C-H aromatik), 1622; 1599; 1497; 1470 dan 1446 (vibrasi ulur C=C aromatik), 1157 dan 1115 (vibrasi ulur C-O-C eter). Berdasarkan spektrum IR, senyawa DL₁ hasil isolasi diketahui mempunyai gugus fungsi hidroksi, aromatik dan eter. Hasil pengukuran spektrum IR senyawa DL₁ terlampir pada Lampiran-2.

Spektrum ^1H -NMR senyawa pterokarpan DL_1 dalam CDCl_3 (400 MHz) memperlihatkan empat sinyal proton yakni sinyal *triplet* pada δ_{H} 3,62 ppm (1H, $J = 11,0$ Hz); sinyal *doublet doublet* pada δ_{H} 4,24 ppm (1H, $J=11,0$ dan 5,3 Hz); sinyal *multiplet* pada δ_{H} 3,52 ppm (1H) dan sinyal *doublet* pada δ_{H} 5,49 ppm (1H, $J = 6,7$ Hz) yang merupakan ciri khas dari kerangka struktur senyawa pterokarpan pada H-6, H-6a dan H-11a (Abdel-Kader, 2004) seperti terlihat pada Gambar 4.1.

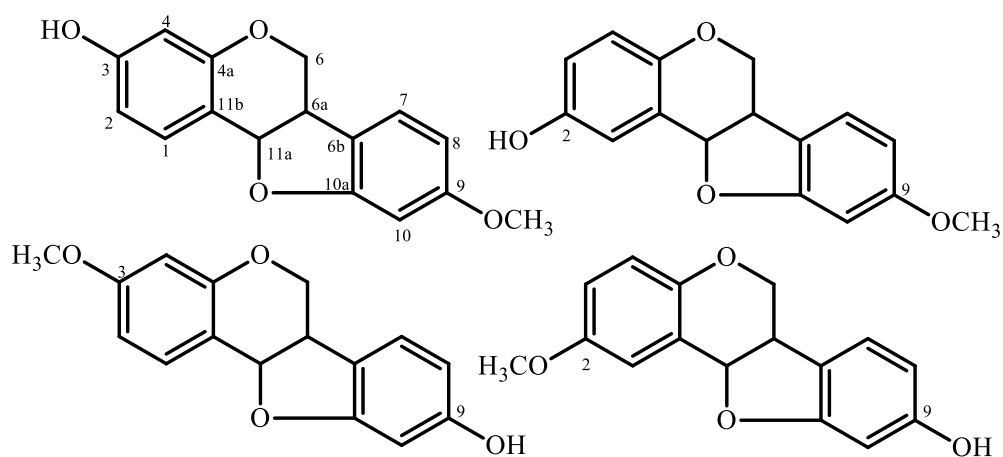


Gambar 4.1. Struktur senyawa pterokarpan

Spektrum ^1H -NMR memperlihatkan adanya sepasang sinyal proton aromatik dengan sistem ABX. Sinyal proton aromatik sistem ABX dari salah satu inti aromatik pada δ_{H} 7,39 ppm (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz); 6,55 ppm (1H, *dd*, $J = 2,4$ dan 8,4 Hz) dan 6,42 ppm (1H, *d*, 2,4 Hz). Sinyal proton aromatik sistem ABX yang lain pada δ_{H} 7,13 ppm (1H, *d*, $J = 8,8$ Hz); δ_{H} 6,46 ppm (1H, *dd*, $J = 2,3$ dan 8,8 Hz) dan 6,45 ppm (1H, *d*, $J = 2,3$ Hz). Berdasarkan sinyal proton kedua aromatik dengan sistem ABX, maka senyawa pterokarpan DL_1 merupakan senyawa pterokarpan disubstitusi pada C-3/9 atau C-2/9 seperti terlihat pada Gambar 4.2. Analisis spektrum ^1H -NMR senyawa DL_1 hasil isolasi terlampir pada Lampiran-3.

Gambar 4.2. Pola substitusi senyawa pterokarpan DL₁

Satu sinyal singlet dari gugus metoksi (-OCH₃) pada δ_H 3,77 ppm menunjukkan bahwa gugus metoksi tersebut terikat pada salah satu inti aromatik senyawa pterokarpan hasil isolasi. Berdasarkan analisis spektrum ¹H-NMR maka kemungkinan struktur kimia senyawa pterokarpan hasil isolasi adalah 3-hidroksi-9-metoksi pterokarpan, 2-hidroksi-9-metoksi pterokarpan, 9-hidroksi-3-metoksi pterokarpan, atau 9-hidroksi-2-metoksi pterokarpan seperti terlihat pada Gambar 4.3.

Gambar 4.3. Kemungkinan struktur senyawa pterokarpan DL₁

Analisis spektrum APT ¹³C-NMR (100 MHz) senyawa DL₁ hasil isolasi (Lampiran-4) memperlihatkan 16 sinyal karbon yang terpisah secara sempurna. Berdasarkan spektrum APT ¹³C-NMR diketahui senyawa DL₁ terdiri dari enam

atom kuartener (termasuk empat karbon oksiaril pada δ_C 161,0; 160,6; 157,0 dan 156,6 ppm), delapan karbon metin (CH), satu karbon metilen (CH₂) dan satu karbon metil dari metoksi yang mendukung struktur senyawa pterokarpan pada Gambar 4.3.

Selanjutnya untuk memastikan struktur kimia senyawa DL₁ adalah senyawa 3-hidroksi-9-metoksi pterokarpan, 2-hidroksi-9-metoksi pterokarpan, 9-hidroksi-3-metoksi pterokarpan atau 9-hidroksi-2-metoksi pterokarpan ditentukan berdasarkan analisis 2D NMR yakni menggunakan spektrum HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*) pada Lampiran-5 dan HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) pada Lampiran-6. Analisis spektrum HMQC dan HMBC selain menentukan struktur molekulnya sekaligus menempatkan posisi atom hidrogen dan karbon pada struktur senyawa pterokarpan hasil isolasi.

Analisis spektrum HMQC senyawa pterokarpan hasil isolasi bertujuan untuk menentukan korelasi antara sinyal proton pada ¹H-NMR dengan sinyal karbon pada ¹³C-NMR dalam satu ikatan. Berdasarkan hasil pengukuran spektrum HMQC senyawa pterokarpan hasil isolasi memperlihatkan 11 sinyal proton pada ¹H-NMR berkorelasi dengan 10 sinyal karbon pada ¹³C-NMR dalam satu ikatan.

Sebagai contoh, sinyal proton aromatik pada δ_H 7,39 ppm (1H, *d*, *J* = 8,4 Hz) diketahui berkorelasi dengan sinyal karbon pada δ_C 132,2 ppm, sinyal proton metilen (CH₂) pada δ_H 3,62 ppm (1H, *J* = 11,0 Hz) dan δ_H 4,24 ppm (1H, *dd*, *J* = 11,0 dan 5,3 Hz) berkorelasi dengan sinyal karbon pada δ_C 66,5 ppm serta sinyal proton metoksi (–OCH₃) pada δ_H 3,77 ppm (3H, *s*) berkorelasi dengan sinyal karbon pada δ_C 55,5 ppm seperti terlihat pada Tabel 4.1.

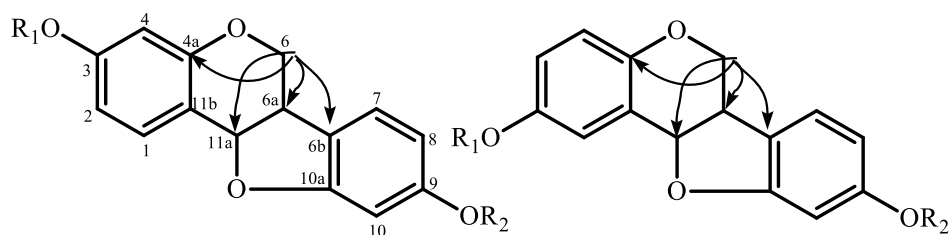
Tabel 4.1 Data spektrum HMQC senyawa pterokarpan hasil isolasi dalam CDCl_3

δ_{H} (mult, <i>J</i> Hz, integritas)	δ_{C}
7,39 (<i>d</i> , 8,4, 1H)	132,2
7,13 (<i>d</i> , 8,8, 1H)	124,8
6,55 (<i>dd</i> , 8,4; 2,4, 1H)	109,7
6,46 (<i>dd</i> , 8,8; 2,3, 1H)	106,3
6,45 (<i>d</i> , 2,3, 1H)	96,7
6,42 (<i>d</i> , 2,4, 1H)	103,6
5,49 (<i>d</i> , 6,7, 1H)	78,5
3,77 (<i>s</i> , 3H)	55,5
3,62 (<i>t</i> , 11,0, 1H) dan 4,24 (<i>dd</i> , 11,0; 5,3, 1H)	66,5
3,52 (<i>m</i> , 1H)	39,4

Analisis spektrum HMQC hanya dapat menentukan korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dalam satu ikatan sehingga tidak dapat menentukan sinyal karbon kuarternier serta menentukan kedudukan sinyal proton dan sinyal karbon senyawa pterokarpan hasil isolasi. Oleh karena itu, analisis spektrum HMBC sangat diperlukan untuk menentukan kedudukan sinyal proton dan sinyal karbon senyawa pterokarpan hasil isolasi. Analisis spektrum HMBC berguna untuk menentukan korelasi jarak jauh antara sinyal proton pada ^1H -NMR dengan sinyal karbon ^{13}C -NMR dalam dua atau tiga ikatan.

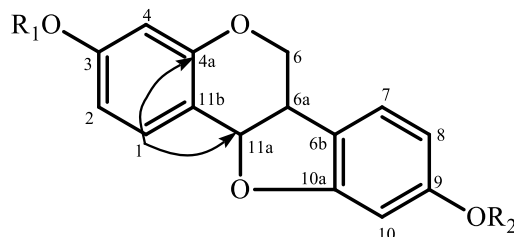
Berdasarkan kerangka struktur senyawa pterokarpan hasil isolasi pada Gambar 4.4 dan spektrum HMBC (Lampiran-6) terlihat adanya korelasi sinyal metilen H-6 (δ_{H} 3,62 dan 4,24 ppm) dengan empat sinyal karbon yakni dua atom karbon kuartener pada δ_{C} 156,6 dan 119,1 ppm serta dua sinyal metin pada δ_{C} 78,5 dan 39,4 ppm. Hasil korelasi tersebut menunjukkan bahwa δ_{C} 156,6 ppm

berkedudukan di C-4a, δ_C 119,1 ppm berkedudukan di C-6b, δ_C 78,5 ppm berkedudukan di C-11a dan δ_C 39,4 ppm berkedudukan di C-6a. Korelasi sinyal proton H-6 (δ_H 3,62 dan 4,24 ppm) dengan sinyal karbon δ_C 156,6; 119,1; 78,5 dan 39,4 ppm dapat dilihat pada Gambar 4.4.



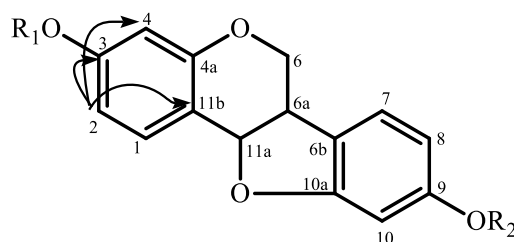
Gambar 4.4. Korelasi sinyal proton H-6 dengan C-4a, C-6a, C-6b dan C-11a

Sinyal *doublet* (1H, $J = 8,4$ Hz) pada δ_H 7,39 ppm dari sinyal proton aromatik sistem ABX memperlihatkan korelasi dengan dua atom karbon kuartener yakni pada δ_C 156,6 ppm (C-4a) dan 78,5 ppm (C-11a). Hasil ini menunjukkan bahwa sinyal proton aromatik pada δ_H 7,39 ppm (1H, d , $J = 8,4$ Hz) mempunyai kedudukan di H-1 dengan multiplisitas *ortho*. Dengan demikian senyawa pterokarpan hasil isolasi adalah 3-hidroksi-9-metoksipterokarpan atau 9-hidroksi-3-metoksipterokarpan. Jika senyawa hasil isolasi adalah 2-hidroksi-9-metoksipterokarpan atau 9-hidroksi-2-metoksipterokarpan maka sinyal proton pada δ_H 7,39 ppm mempunyai multiplisitas *meta*. Korelasi antara sinyal proton aromatik di H-1 dengan sinyal karbon pada δ_C 156,6 ppm (C-4a) dan 78,5 ppm (C-11a) dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Korelasi sinyal proton H-1 dengan C-4a dan C-11a

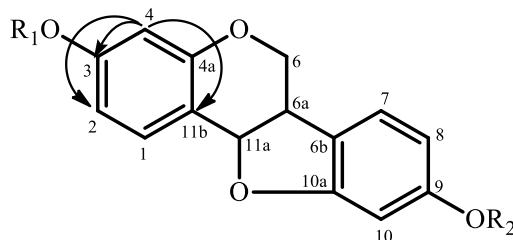
Korelasi sinyal proton aromatik dari sistem ABX pada δ_H 6,55 ppm (1H, *dd*, $J = 8,4$ dan $2,4$ Hz) dengan dua sinyal karbon kuarterner dan satu sinyal metin pada δ_C 157,0 (karbon oksiaril); 112,6; dan 103,6 ppm seperti terlihat pada Gambar 4.6 menunjukkan bahwa δ_H 6,55 ppm berkedudukan di H-2 serta sinyal karbon δ_C 157,0 di C-3, δ_C 112,6 ppm di C-11b dan δ_C 103,6 ppm di C-4. Penempatan kedudukan sinyal karbon δ_C 103,6 ppm di C-4 diperkuat oleh data spektrum HMQC berdasarkan data Tabel 4.1 yakni sinyal proton aromatik δ_H 6,42 ppm (1H, *d*, $J = 2,4$ Hz) di H-4 berkorelasi dengan sinyal karbon δ_C 103,6 ppm. Korelasi sinyal proton H-2 (δ_H 6,55 ppm) dengan sinyal karbon δ_C 157,0 ppm (C-3), 103,6 ppm (C-4) dan 112,6 ppm (C-11b) dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Korelasi sinyal proton H-2 dengan C-3, C-4 dan C-11b

Korelasi sinyal proton aromatik H-4 pada δ_H 6,42 ppm (1H, *d*, $J = 2,4$ Hz) dengan dua sinyal karbon kuarterner dan satu sinyal metin pada δ_C 157,0 ppm (C-3); 112,6 ppm (C-11b) dan 109,7 ppm menunjukkan bahwa δ_C 109,7 ppm di C-2.

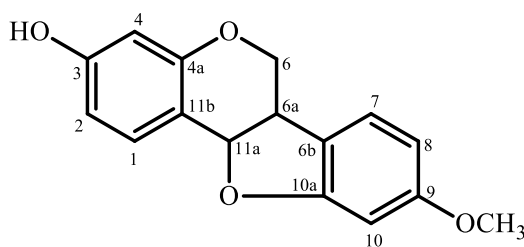
Korelasi sinyal proton di H-4 (δ_H 6,42 ppm) dengan sinyal karbon δ_C 157,0 ppm (C-3); 112,6 ppm (C-11b) dan 109,7 ppm (C-4) dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7. Korelasi sinyal proton H-4 dengan C-2, C-4a dan C-11b

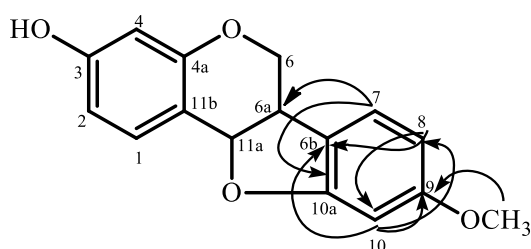
Dengan spektrum ^1H -NMR dan spektrum HMQC dapat ditentukan sinyal proton H-7 adalah δ_H 7,13 ppm (1H, *d*, $J = 8,8$ Hz) dengan sinyal karbon δ_C 124,8 ppm, sinyal proton di-H-8 adalah δ_H 6,46 ppm (1H, *dd*, $J = 8,8$ dan 2,3 Hz) dengan sinyal karbon δ_C 106,3 ppm dan sinyal proton di H-10 adalah 6,45 ppm (1H, *d*, $J = 2,3$ Hz) dengan sinyal karbon δ_C 96,7 ppm.

Berdasarkan data analisis spektrum ^1H NMR, ^{13}C NMR, HMQC dan HMBC maka diketahui struktur senyawa pterokarpan hasil isolasi adalah 3-hidroksi-9-metoksipterokarpan seperti terlihat pada Gambar 4.8. Senyawa 3-hidroksi-9-metoksipterokarpan dikenal dengan nama medikarpan (Martínez-Sotres, *et al.*, 2012).



Gambar 4.8. Struktur medikarpan hasil isolasi

Sinyal singlet gugus metoksi pada δ_H 3,77 ppm memperlihatkan korelasi dengan sinyal karbon pada δ_C 161,0 ppm. Sinyal karbon pada δ_C 161,0 ppm berkedudukan di C-9 didukung oleh korelasi antara H-7, H-8 dan H-10 dengan sinyal karbon dalam dua atau tiga ikatan seperti pada Gambar 4.9. Berdasarkan data spektrum HMBC (Lampiran-6) ditunjukkan bahwa gugus metoksi (-OCH₃) terikat di C-9 dan gugus hidroksi (-OH) di C-3.



Gambar 4.9. Korelasi H-7, H-8 dan H-10 pada spektrum HMBC

Tabel 4.2. Data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR senyawa medikarpin dalam CDCl_3 .

No.C	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	HMBC
1	7,39 (<i>d</i> , 8,4)	132,2	C-4a, C-11a
2	6,55 (<i>dd</i> , 8,4; 2,4)	109,7	C-3; C-4; C-11b
3	-	157,0	-
4	6,42 (<i>d</i> , 2,4)	103,6	C-2; C-3, C-11b
4a	-	156,6	-
6	3,62 (<i>t</i> , 11,0) 4,24 (<i>dd</i> , 11,0; 5,3)	66,5	C-4a; C-6a; C-6b, C-11a
6a	3,52 (<i>m</i>)	39,4	C-6; C-6b, C-10a
6b	-	119,1	-
7	7,13 (<i>d</i> , 8,8)	124,8	C-6a; C-10a
8	6,46 (<i>dd</i> , 8,8; 2,3)	106,3	C-6b; C-10
9	-	161,0	-
10	6,45 (<i>d</i> , 2,3)	96,7	C-6b; C-8; C-9
10a	-	160,6	-
11a	5,49 (<i>d</i> , 6,7)	78,5	C-1; C-4a. C-6; C-11b
11b	-	112,6	-
9-OCH ₃	3,77 (<i>s</i>)	55,5	C-9

Berdasarkan data analisis ^1H NMR, ^{13}C NMR, HMQC dan HMBC maka kedudukan atau posisi sinyal proton, sinyal karbon serta korelasi dalam satu ikatan, dua ikatan atau tiga ikatan untuk senyawa medikarpin hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.3 Perbandingan data spektrum NMR senyawa medikarpin

No.C	Medikarpin Hasil Isolasi		Medikarpin (Abdel-Kader, 2004)	
	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}
1	7,39 (d, 8,4)	132,2	7,37 (d, 8,5)	132,4
2	6,55 (dd, 8,4; 2,4)	109,7	6,54 (dd, 8,5; 2,3)	110,1
3	-	157,0	-	157,4
4	6,42 (d, 2,4)	103,6	6,41 (d, 2,3)	103,9
4a	-	156,6	-	156,8
6	3,62 (t, 11,0) 4,24 (dd, 11,0; 5,3)	66,5	3,62 (t, 10,9) 4,23 (dd, 10,9; 4,9)	66,8
6a	3,52 (m)	39,4	3,52 (m)	39,7
6b	-	119,1	-	119,4
7	7,13 (d, 8,8)	124,8	7,12 (d, 8,8)	125,0
8	6,46 (dd, 8,8; 2,3)	106,3	6,45 (dd, 8,8; 2,5)	106,7
9	-	161,0	-	160,9
10	6,45 (d, 2,3)	96,7	6,43 (d, 2,5)	97,2
10a	-	160,6	-	161,3
11a	5,49 (d, 6,7)	78,5	5,49 (d, 6,5)	78,8
11b	-	112,6	-	112,7
9-OCH ₃	3,77 (s)	55,5	3,76 (s)	55,8

Data titik leleh senyawa medikarpin hasil isolasi memperlihatkan kesesuaian dengan titik leleh medikarpin yang diisolasi dari *Dalbergia oliveri* yakni sebesar 132-133,5°C (Pleumpanupat, *et al.*, 2013). Data spektrum NMR senyawa medikarpin hasil isolasi juga memperlihatkan kesesuaian yang tinggi dengan senyawa medikarpin pembanding yang diisolasi dari tumbuhan *Ononis serrata* Forssk (Abdel-Kader, 2004). Perbandingan data spektrum NMR senyawa medikarpin hasil isolasi dan medikarpin pembanding dalam CDCl₃ dapat dilihat pada Tabel 4.3.

4.2.2 Senyawa (3R)-vestitol (DL₂)

Senyawa DL₂ hasil isolasi diperoleh berupa padatan berwarna putih. Spektrum UV (Lampiran-7) senyawa hasil isolasi dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} nm (log ϵ): 229 (4,52); 268sh (3,87); 281 (4,31) dan 284 (4,31) yang merupakan ciri khas serapan isoflavan (Abe, *et. al.*, 2014).

Dalam spektrum IR senyawa DL₂ hasil isolasi dalam KBr menunjukkan ν_{maks} (cm⁻¹) pada 3404 (vibrasi ulur O-H), 2941 dan 2847 (vibrasi ulur C-H aromatik), 1622; 1506; 1456 dan 1433 (vibrasi ulur C=C aromatik), 1161 dan 1119 (vibrasi ulur C-O-C eter). Berdasarkan spektrum IR, senyawa DL₂ hasil isolasi diketahui mempunyai gugus fungsi hidroksi, aromatik dan eter. Hasil pengukuran spektrum IR senyawa DL₂ terlampir pada Lampiran-8.

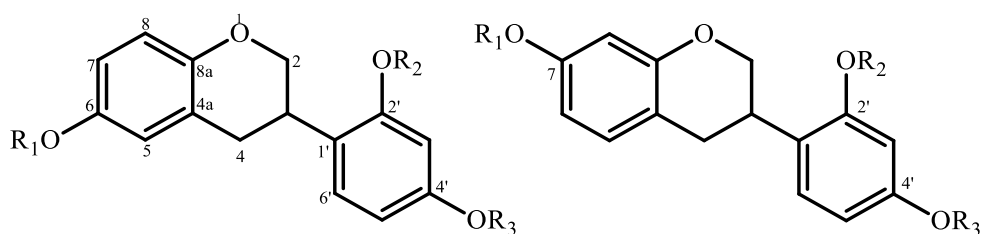
Spektrum massa senyawa DL₂ memperlihatkan massa ion kuasi molekul negatif m/z 271,0965 yang sesuai dengan rumus molekul C₁₆H₁₅O₄ (perhitungan [M-H]⁻ 271,0970). Berdasarkan data HRESIMS senyawa DL₂ mempunyai *Derajat Bond Equivalent* (DBE) berjumlah 9. Spektrum HRESIMS senyawa DL₂ dapat dilihat pada Lampiran-9. Berdasarkan data HRESIMS dan ¹³C-NMR maka disarankan senyawa hasil isolasi DL₂ merupakan senyawa turunan flavan atau isoflavan (Martinez-Sotres, *et al.*, 2012).

Spektrum APT ¹³C-NMR (100 MHz) senyawa hasil isolasi memperlihatkan 16 sinyal karbon yang terpisah dengan sempurna. Sinyal karbon senyawa DL₂ terdiri dari enam sinyal karbon kuarternar (termasuk empat sinyal karbon oksiaril pada δ_c 160,3; 157,5; 156,7 dan 156,0 ppm), tujuh sinyal karbon metin (CH), dua

sinyal karbon metilen (CH_2) dan satu sinyal karbon metil dari metoksi ($-\text{OCH}_3$). Analisis spektrum APT ^{13}C -NMR dapat dilihat pada Lampiran-11.

Spektrum ^1H -NMR senyawa DL_2 dalam CDCl_3 (400 MHz) memperlihatkan sinyal proton pada δ_{H} 4,23 ppm (1H, *m*), 3,97 ppm (1H, *t*, $J = 10,2$ Hz), 3,46 (1H, *m*), 2,96 (1H, *m*) dan 2,81 (1H, *m*) yang merupakan sinyal proton khas dari senyawa turunan isoflavan pada H-2, H-3 dan H-4 (Jie, *et al*; 2006). Spektrum ^1H -NMR senyawa DL_2 dapat dilihat pada Lampiran-10.

Spektrum ^1H -NMR senyawa DL_2 memperlihatkan sepasang sinyal proton aromatik dengan sistem ABX. Sinyal proton dari salah satu unit aromatik mempunyai sinyal proton pada pergeseran kimia δ_{H} 6,89 ppm (1H, *d*, $J = 8,2$ Hz), 6,35 ppm (1H, *dd*, $J = 8,2$ dan $2,5$ Hz) dan 6,26 ppm (1H, *d*, $J = 2,5$ Hz). Sinyal proton sistem ABX dari unit aromatik lainnya mempunyai sinyal proton pada pergeseran kimia δ_{H} 7,04 ppm (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz), 6,48 ppm (1H, *d*, $J = 2,6$ Hz) dan 6,41 ppm (1H, *dd*, $J = 8,5$ dan $2,6$ Hz). Berdasarkan data spektrum ^1H -NMR maka disarankan senyawa fenolik hasil isolasi merupakan senyawa isoflavan yang tersubstitusi di C-6/2'/4' atau C-7/2'/4' seperti terlihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10. Pola substitusi senyawa isoflavan DL_2

Justifikasi tiga buah substituen oksiaril seperti terlihat pada Gambar 4.10 serta penempatan posisi proton dan karbon senyawa isoflavan hasil isolasi ditentukan dengan pengukuran 2D NMR yakni HMQC dan HMBC.

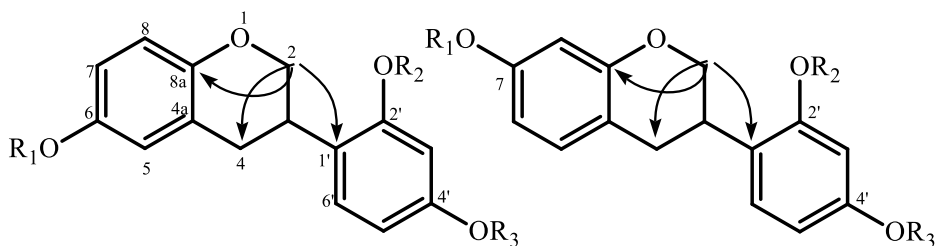
Analisis spektrum HMQC (Lampiran-12) memperlihatkan korelasi antara sinyal proton pada δ_H 4,23 ppm (1H, *m*) dan 3,97 ppm (1H, *t*, $J = 10,2$ Hz) dengan sinyal karbon metilen (CH_2) pada δ_C 70,4 ppm, sinyal proton aromatik pada δ_H 7,04 ppm (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz) memperlihatkan korelasi dengan sinyal karbon metin (CH) pada δ_C 128,7 ppm dan sinyal proton metoksi ($-OCH_3$) pada δ_H 3,71 ppm berkorelasi dengan sinyal karbon pada δ_C 55,3 ppm. Dengan demikian dua buah sinyal singlet proton pada δ_H 8,54 dan 8,10 ppm merupakan sinyal proton dari gugus hidroksi ($-OH$). Data analisis spektrum HMQC senyawa isoflavan hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Data spektrum HMQC senyawa isoflavan hasil isolasi dalam $CDCl_3$.

δ_H (mult, <i>J</i> Hz, integritas)	δ_C
7,04 (<i>d</i> , 8,5, 1H)	128,7
6,89 (<i>d</i> , 8,2, 1H)	131,0
6,48 (<i>d</i> , 2,6, 1H)	102,4
6,41 (<i>dd</i> , 8,5; 2,6, 1H)	105,5
6,35 (<i>dd</i> , 8,2; 2,5, 1H)	108,7
6,26 (<i>d</i> , 2,5, 1H)	103,6
4,23 (<i>m</i> , 1H) dan 3,97 (<i>t</i> , 10,2, 1H)	70,4
3,71 (<i>s</i> , 3H)	55,3
3,46 (<i>m</i> , 1H)	32,5
2,96 (<i>m</i> , 1H) dan 2,81 (<i>m</i> , 1H)	31,0

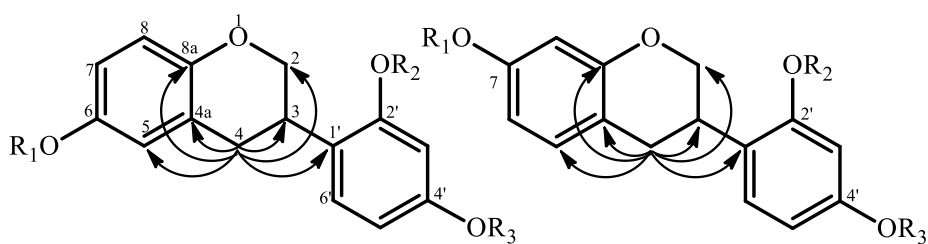
Berdasarkan struktur isoflavan pada Gambar 4.10 maka sinyal proton pada δ_H 4,23 dan 3,97 ppm merupakan metilen yang mempunyai posisi di H-2. Kemudian pada spektrum HMBC (Lampiran-13) kedua sinyal proton δ_H 4,23 dan

3,97 ppm berkorelasi dengan dua sinyal karbon kuarterner (salah satunya sinyal karbon oksiaril) dan satu karbon metilen yakni δ_C 156,0; 120,8 dan 31,0 ppm. Hasil korelasi tersebut menunjukkan bahwa δ_C 156,0 ppm berkedudukan di C-8a, δ_C 120,8 ppm di C-1' dan δ_C 31,0 ppm di C-4 seperti terlihat pada Gambar 4.11.



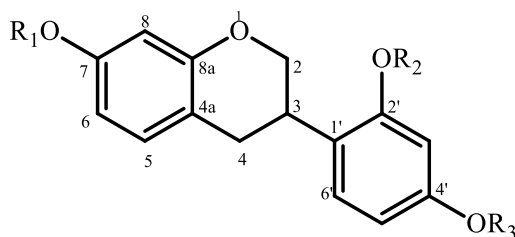
Gambar 4.11. Korelasi antara sinyal proton H-2 dengan sinyal karbon C-4, C-8a dan C-1'

Berdasarkan analisis HMQC sinyal karbon δ_C 31,0 ppm (C-4) berkorelasi dengan sinyal proton metilen pada δ_H 2,96 dan 2,81 ppm. Dengan demikian sinyal proton pada δ_H 2,96 dan 2,81 ppm mempunyai posisi di H-4. Sinyal proton pada δ_H 2,96 dan 2,81 ppm berkorelasi dengan tiga buah sinyal karbon kuarterner (δ_C 156,0; 120,8 dan 114,2 ppm), dua buah sinyal karbon metin (δ_C 131,0 dan 32,5 ppm) dan satu buah sinyal karbon metilen (δ_C 70,4 ppm). Hasil korelasi tersebut menunjukkan bahwa δ_C 113,0 ppm berkedudukan di C-5; δ_C 114,2 ppm di C-4a; δ_C 70,4 ppm di C-2 dan δ_C 32,5 ppm di C-3. Korelasi antara sinyal proton di H-4 dengan sinyal karbon di C-2; C-3, C-4a; C-5; C-8a dan C-1' dapat dilihat pada Gambar 4.12.



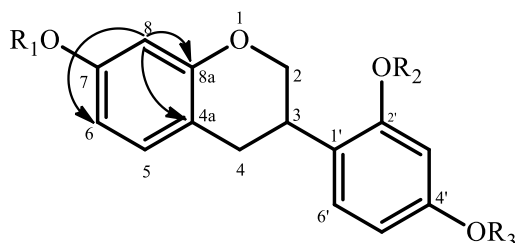
Gambar 4.12. Korelasi antara sinyal proton H-2 dengan sinyal karbon C-2; C-3, C-4a; C-5; C-8a dan C-1'

Berdasarkan data Tabel 4.2 spektrum HMQC sinyal karbon δ_C 113,0 ppm berkorelasi satu ikatan dengan sinyal proton aromatik δ_H 6,89 ppm (1H, *d*, $J = 8,2$ Hz). Sinyal proton aromatik δ_H 6,89 dengan multiplisitas *ortho* menunjukkan bahwa senyawa isoflavan tersubstitusi di C-7/2'/C-4' seperti terlihat pada Gambar 4.13.



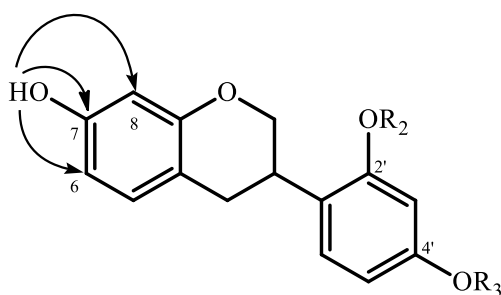
Gambar 4.13. Senyawa isoflavan yang tersubstitusi di C-7/2'/C-4'

Korelasi dua atau tiga ikatan antara sinyal proton aromatik δ_H 6,26 (1H, *d*, $J = 2,5$ Hz) dengan dua sinyal karbon kurtener [δ_C 156,0 ppm (8a) dan 114,2 ppm (4a)] serta satu sinyal karbon metin pada δ_C 108,7 ppm menunjukkan bahwa δ_H 6,26 ppm di H-8. Sinyal karbon metin aromatik δ_C 108,7 ppm pada spektrum HMQC mempunyai sinyal proton aromatik pada δ_H 6,35 ppm (1H, *dd*, $J = 8,2$ dan 2,5 Hz) multiplisitas *ortho* dan *meta* yang mendukung struktur isoflavan pada Gambar 4.13. Dengan demikian, sinyal karbon δ_C 108,7 ppm berkedudukan di C-6. Korelasi antara sinyal proton aromatik di H-8 dengan sinyal karbon di C-4a; C-6; dan C-8a dapat dilihat pada Gambar 4.14.



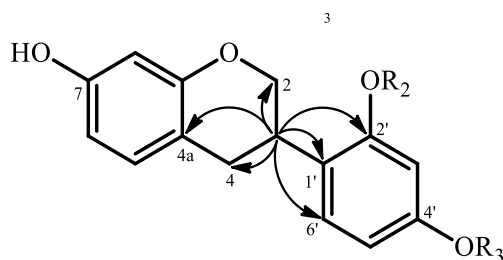
Gambar 4.14. Korelasi antara H-6 dengan sinyal karbon di C-4a; C-6; dan C-8a

Pada spektrum HMBC terlihat korelasi antara sinyal proton gugus hidroksi (-OH) fenol pada δ_H 8,10 ppm dengan satu sinyal karbon kuarterner (δ_C 157,5 ppm) serta dua sinyal karbon metin [δ_C 108,7 ppm (C-6) dan 103,6 ppm (C-8)]. Hasil ini menunjukkan sinyal karbon δ_C 157,5 ppm berkedudukan di C-7. Berdasarkan hasil korelasi tersebut diketahui substituen yang terikat di C-7 adalah hidroksi (-OH). Korelasi antara sinyal proton 7-OH dengan sinyal karbon di C-6; C-7; dan C-8 dapat dilihat pada Gambar 4.15.



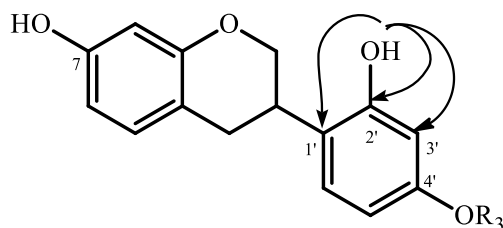
Gambar 4.15. Korelasi antara 7-OH dengan sinyal karbon di C-6; C-7; dan C-8

Analisis spektrum HMBC antara sinyal proton metin pada 3,46 (*m*) di H-3 mempunyai korelasi dengan tiga buah sinyal karbon kuarterner [δ_C 156,7 ppm; 120,8 ppm (C-1') dan 114,2 ppm (C-4a)], satu sinyal karbon metin δ_C 128,7 ppm dan dua sinyal karbon metilen [δ_C 70,4 ppm (C-2) dan 31,0 ppm (C-4)]. Berdasarkan hasil korelasi ini menunjukkan bahwa δ_C 128,7 ppm berkedudukan di C-6' dan δ_C 156,7 ppm berkedudukan di C-2'. Korelasi antara H-3 dengan sinyal karbon di C-2; C-4; C-4a; C-1'; C-2' dan C-6' dapat dilihat pada Gambar 4.16.



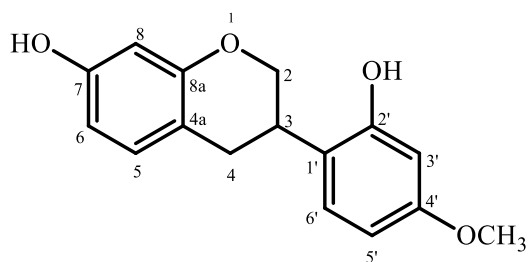
Gambar 4.16. Korelasi antara H-3 dengan sinyal karbon di C-2; C-4; C-4a; C-1'; C-2' dan C-6'

Korelasi antara sinyal proton gugus hidroksi (-OH) pada δ_H 8,54 ppm dengan dua sinyal karbon kuarternar [$(\delta_C$ 156,7 ppm (C-2') dan 120,8 ppm (C-1')] serta satu sinyal karbon metin pada δ_C 102,4 ppm menunjukkan sinyal karbon oksiaril (-OR₂) merupakan hidroksi (-OH) dan sinyal karbon metin pada δ_C 102,4 ppm berkedudukan di C-3'. Korelasi antara sinyal proton 2'-OH dengan sinyal karbon di C-1'; C-2'; dan C-3' dapat dilihat pada Gambar 4.17.



Gambar 4.17. Korelasi antara 2'-OH dengan sinyal karbon di C-1'; C-2' dan C-3'

Analisis spektrum 1H NMR (Lampiran-10) senyawa isoflavan hasil isolasi mempunyai satu buah gugus metoksi pada δ_H 3,71 ppm dan mempunyai sinyal karbon δ_C 55,3 ppm pada spektrum ^{13}C NMR (Lampiran-11). Dengan demikian substituen -OR₃ di C-4' merupakan gugus metoksi. Berdasarkan hasil analisis 1H NMR, ^{13}C NMR, HMQC dan HMBC maka senyawa isoflavan hasil isolasi adalah 7,2'-dihidroksi-4'-metoksiisoflavan (Gambar 4.18).

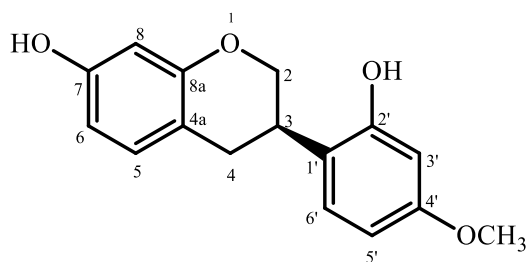


Gambar 4.18. Struktur senyawa vestitol hasil isolasi

Data spektrum NMR yang mendukung struktur senyawa 7,2'-dihidroksi-4'-metoksiisoflavan dapat dilihat pada Tabel 4.5. Senyawa 7,2'-dihidroksi-4'-metoksiisoflavan dikenal dengan nama vestitol. Stereokimia senyawa vestitol mempunyai atom C-khiral pada C-3.

Tabel 4.5. Data spektrum ^1H dan ^{13}C NMR senyawa vestitol hasil isolasi dalam aseton- d_6

No.C	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	HMBC
2	3,97 (<i>t</i> , 10,2) 4,23 (<i>m</i>)	70,4	C-4; C-8a; C-1'
3	3,46 (<i>m</i>)	32,5	C-2; C-4; C-4a; C-1'; C-2'; C-6'
4	2,81 (<i>m</i>) 2,96 (<i>m</i>)	31,0	C-2; C-3, C-4a; C-5; C-8a; C-1'
4a	-	114,2	-
5	6,89 (<i>d</i> , 8,2)	131,0	C-4; C-8a
6	6,35 (<i>dd</i> , 8,2; 2,5)	108,7	C-4a; C-7, C-8
7	-	157,5	-
8	6,26 (<i>d</i> , 2,5)	103,6	C-4a; C-6; C-8a
8a	-	156,0	-
1'	-	120,8	-
2'	-	156,7	-
3'	6,48 (<i>d</i> , 2,6)	102,4	C-1', C-2'; C-4'; C-5'
4'	-	160,3	-
5'	6,41 (<i>dd</i> , 8,5; 2,6)	105,5	C-1', C-3'; C-4'
6'	7,04 (<i>d</i> , 8,5)	128,7	C-3; C-2'; C-4'
7-OH	8,10 (<i>s</i>)	-	C-6; C-7; C-8
2'-OH	8,54 (<i>s</i>)	-	C-1'; C-2'; C-3'
4'-OCH ₃	3,71 (<i>s</i>)	55,3	C-4'



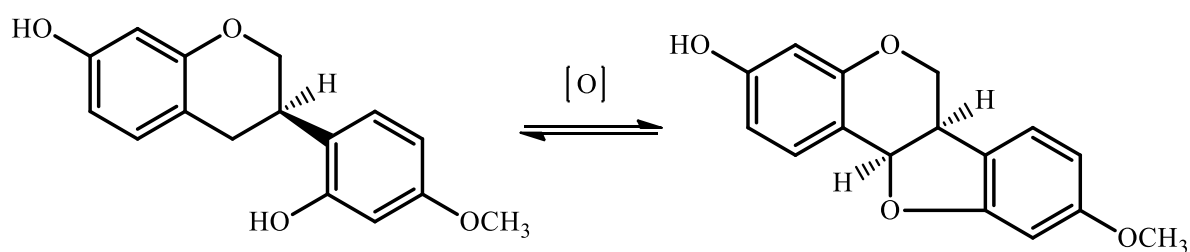
Gambar 4.19. Struktur senyawa (3R)-vestitol hasil isolasi

Tabel 4.6. Perbandingan data spektrum NMR senyawa (3R)-vestitol

No.C	(3R)-vestitol hasil isolasi		(3R)-vestitol (Jie, <i>et al</i> ; 2006)		(3S)-vestitol (Jie, <i>et al</i> ; 2006)	
	δ_H (mult, <i>J</i> Hz)	δ_C	δ_H (mult, <i>J</i> Hz)	δ_C	δ_H (mult, <i>J</i> Hz)	δ_C
2	3,97 (<i>t</i> , 10,2) 4,23 (<i>m</i>)	70,4	3,97 (<i>t</i> , 10,2) 4,23 (<i>m</i>)	70,5	4,25 (<i>t</i> , 9,9) 4,59 (<i>m</i>)	70,9
3	3,46 (<i>m</i>)	32,5	3,47 (<i>m</i>)	32,6	3,96 (<i>m</i>)	32,7
4	2,81 (<i>m</i>) 2,96 (<i>m</i>)	31,0	2,76 (<i>m</i>) 2,96 (<i>m</i>)	31,0	3,01 (<i>m</i>) 3,20 (<i>m</i>)	31,0
4a	-	114,2	-	114,3	-	115,4
5	6,89 (<i>d</i> , 8,2)	131,0	6,89 (<i>d</i> , 8,0)	131,0	7,10 (<i>d</i> , 8,3)	131,6
6	6,35 (<i>dd</i> , 8,2; 2,5)	108,7	6,35 (<i>dd</i> , 8,0; 2,0)	108,7	6,85 (<i>dd</i> , 8,3; 2,2)	109,2
7	-	157,5	-	157,5	-	156,9
8	6,26 (<i>d</i> , 2,5)	103,6	6,27 (<i>d</i> , 2,0)	103,6	6,92 (<i>d</i> , 2,2)	103,6
8a	-	156,0	-	156,1	-	156,0
1'	-	120,8	-	120,9	-	121,5
2'	-	156,7	-	156,7	-	156,7
3'	6,48 (<i>d</i> , 2,6)	102,4	6,48 (<i>d</i> , 2,5)	102,4	6,85 (<i>d</i> , 2,2)	101,7
4'	-	160,3	-	160,4	-	160,4
5'	6,41 (<i>dd</i> , 8,5; 2,6)	105,5	6,42 (<i>dd</i> , 8,5; 2,5)	105,7	6,58 (<i>dd</i> , 8,3; 2,2)	105,5
6'	7,04 (<i>d</i> , 8,5)	128,7	7,05 (<i>d</i> , 8,5)	128,7	7,20 (<i>d</i> , 8,5)	128,7
7-OH	8,10 (<i>s</i>)	-	8,06 (<i>s</i>)	-	8,10 (<i>s</i>)	-
2'-OH	8,54 (<i>s</i>)	-	8,48 (<i>s</i>)	-	8,54 (<i>s</i>)	-
4'-OCH ₃	3,71 (<i>s</i>)	55,3	3,71 (<i>s</i>)	55,3	3,68 (<i>s</i>)	55,1

Data spektrum NMR senyawa vestitol hasil isolasi memperlihatkan kesesuaian yang tinggi dengan pembanding yakni (3R)-vestitol yang diisolasi dari tumbuhan *Millettia nitita* var *hirsutissima* (Jie, *et. al.*, 2006). Perbandingan data spektrum NMR senyawa (3R)-vestitol hasil isolasi dan pembanding dalam aseton-*d*₆ dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Berdasarkan hasil penelitian, dua senyawa fenolik telah dipisahkan dan dimurnikan dari ekstrak etilasetat kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. Dua senyawa fenolik tersebut adalah medikarpin dan (3R)-vestitol. Senyawa medikarpin merupakan senyawa turunan pterokarpan sedangkan senyawa (3R)-vestitol merupakan senyawa turunan isoflavan. Senyawa (3R)-vestitol merupakan senyawa turunan isoflavan yang pertama kali ditemukan pada kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. Secara biogenetik, pembentukan senyawa medikarpin berasal dari reaksi oksidasi (3R)-vestitol seperti terlihat pada Gambar 4.18



Gambar 4.20 Hubungan biosintesis senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol

4.3 Penentuan Aktivitas Anti-HIV Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol hasil isolasi ditentukan aktivitas anti-HIVnya terhadap sel HIV-1 MT4 dengan bantuan sel limfosit T MOLT 4 secara *in vitro* menggunakan metode pembentukan *syncytia*. *Syncytia* adalah sel

tunggal yang memiliki beberapa inti karena fusi sel atau pembelahan inti. Pembentukan *syncytia* dihitung dengan bantuan pereaksi *trypan blue*.

Aktivitas sitotoksik dinyatakan dalam daya hambat IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa aktif yang diperlukan untuk menghambat 50% sel virus HIV-1. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan analisis data *forecast* pada *microsoft excel* antara nilai persentase hambatan senyawa aktif terhadap berbagai konsentrasi. Suatu ekstrak tanaman dikategorikan berpotensi menghambat aktivitas anti-HIV pada konsentrasi ≤ 50 ppm (Cesar, *et al.*, 2011)

Konsentrasi ekstrak etilasetat, senyawa murni medikarpin dan (3R)-vestitol yang digunakan diantaranya adalah 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56 dan 0,78 ppm. Hal ini dilakukan karena pada pengukuran sebelumnya sampai konsentrasi 50 ppm, semua virus maupun sel T mati, sehingga variasi konsentrasi diperkecil menjadi ≤ 25 ppm. Hasil yang didapatkan adalah senyawa murni medikarpin dan (3R)-vestitol memiliki nilai IC_{50} masing-masing sebesar 23,26 ($8,61 \times 10^{-5}$ M) dan 26,45 ppm ($9,72 \times 10^{-5}$ M). Sedangkan untuk ekstrak etilasetat memiliki nilai IC_{50} pada 0,78 ppm (Lampiran-14). Hal ini menunjukkan bahwa ketiganya memiliki daya hambat terhadap perkembangan virus HIV-1, sehingga baik senyawa murni medikarpin maupun (3R)-vestitol memiliki potensi sebagai anti-HIV.

Ekstrak etilasetat pada konsentrasi $>0,78$ ppm baik virus maupun sel limfosit mati. Hal ini dapat disebabkan oleh toksisitas ekstrak tersebut atau adanya beberapa komponen dalam ekstrak yang saling bersinergi sehingga aktivitasnya menjadi tinggi.

Berdasarkan studi pustaka, senyawa pterokarpan yang memiliki aktivitas anti-HIV seperti 9-benziloksi-3,8-dimetoksipterokarpan memiliki nilai IC_{50} sebesar $6,94 \times 10^{-5}$ M (Engler, *et. al.*, 1996). Dalam literatur tersebut juga disebutkan bahwa pterokarpan memberikan aktivitas anti-HIV yang tinggi jika memiliki substituen metoksi (OCH_3) pada C-3 dan atau hidroksi (OH) pada C-8 dan metoksi tersubstitusi (OCH_2R) pada C-9. Hal ini dibuktikan dengan aktivitas pterokarpan hasil isolasi yakni medikarpin yang terikat substituen hidroksi (OH) pada C-3 dan metoksi (OCH_3) pada C-9 memiliki aktivitas anti-HIV yang lebih rendah dari pada senyawa pterokarpan literatur. Senyawa pterokarpan pada literatur memiliki substituen metoksi (OCH_3) pada C-3 dan substituen metoksi tersubstitusi yakni benziloksi (OCH_2Ph) pada C-9.

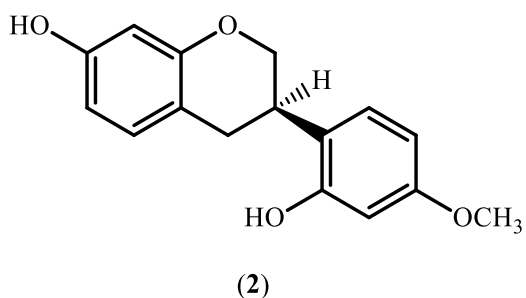
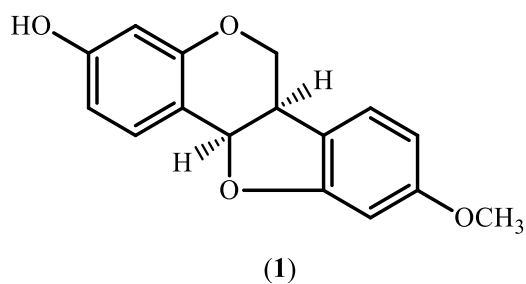
BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Senyawa pterokarpan berhasil diisolasi dari kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. yakni 3-hidroksi-9-hidroksipterokarpan (medikarpin). Selain itu, telah diisolasi juga prekursor senyawa tersebut dari golongan isoflavan yakni 7,2'-dihidroksi-4'-metoksiisoflavan ((3R)-vestitol). Struktur keduanya (Gambar 5.1) ditetapkan berdasarkan data pengukuran spektroskopi UV, IR, HRESIMS, 1D NMR (^1H -NMR dan ^{13}C -NMR), dan 2D NMR (HMQC dan HBMC).



Gambar 5.1 Struktur senyawa medikarpin (1) dan (3R)-vestitol (2)

2. Uji aktivitas anti-HIV ekstrak etilasetat, senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol yang diisolasi dari kulit batang *Dalbergia latifolia* Roxb. memiliki nilai IC_{50} masing-masing sebesar 0,78; 23,26 dan 26,45 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ketiganya mampu menghambat pertumbuhan sel HIV-1 MT 4.

5.2 Saran

Mengingat senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol relatif mampu menghambat perkembangan sel HIV-1 MT4 maka disarankan untuk dilakukan uji lebih lanjut seperti uji toksisitas, *in vivo* dan pra klinis sehingga diketahui potensi keduanya sebagai obat penyakit AIDS.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Kader, M.S., 2004, Two Isoflavonoid Glucoside from *Ononis serrata* Growing in Egypt, *Nat. Prod. Sci.*, **10** (6), 321-324
- Abe, N., Sato, H., dan Sadao S., 1987, Antifungal Stress Compounds from Adzuki Bean, *Vigna angularis*, Treated with *Chephalosporium gregatum* Type B, *Agric. Biol. Chem.*, **51** (2), 349-353
- Abe, F., Donelly, D.M.X., Moretti, C., dan Judith P., 1985, Isoflavonoid Constituents from *Dalbergia monetaria*, *Phytochem.*, **24** (5), 1071-1076
- Adinarayana, D., dan J. Rajasekhara R., 1972, Isoflavonoid Glycosides of *Dalbergia Paniculata*, The Constituent of Dalpanitin and Dalpatin, *Tetrahedron*, **28**, 5377-5384
- Alencar, R.D., Filho, R.B., dan O.R. Gottlieb, 1972, Pterocarpanoids from *Dalbergia decipularis*, *Phytochem.*, **11**, 1517
- Anonim, 2015, http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506331, akses pada 3 Desember 2015 pukul 12.15
- Bakty, Y., 2010, Pengaruh Ekstrak heksan, Metanol dan Etanol Tanaman Obat *Justicia gendarusa* Burm. f. terhadap Virus HIV In Vitro, *Skripsi* Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya
- Bekker, M., Malan, E., Steenkamp, J.A., dan E. Vincent B., 2002, An Isoflavonoid-Neoflavonoid and An O-Methylated Isoflavone from The Heartwood of *Dalbergia nitidula*, *Phytochem.*, **59**, 415-418
- Beldjoudi, N., Mambu, L., Labaied, M., Grellier, P., Ramanitrahassimbola, D., Rasoanaivo, P., Martin, M.T., dan Francois F., 2003, Flavonoids from *Dalbergia louvelii* and Their Antiplasmodial Activity, *J. Nat. Prod.*, **66**, 1447-1450
- Cesar, G.J., Alfonso, M.G., Marius, M., Elizabeth, E., Angel, C.M., Maira, H., Guadalupe, C.M., Manuel, J., dan Reyes-Chilpa Ricardo, 2011. Inhibition of HIV-1 Reverse Transcriptase, Toxicological and Chemical Profile of *Calophyllum brasiliense* Extracts from Chiapas, Mexico, *Fito.*, **82**, 1027-1034
- Chan, S., Chang, Y., dan Kuo S., 1997, Neoflavonoids from *Dalbergia odorifera*, *Phytochem.*, **46** (5), 947-949
- Cheenpracha, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., Akharawait K., 2009, Candanatenins A-F, Phenolic Compound from the Heartwood of *Dalbergia candanensis*, *J. Nat Prod.*, **72**, 1395-1398

- Cheng, Z., Kuo, S., Chan, S., Ko, F., dan Cheng-Ming T., 1998, Antioxidant Properties of Butein Isolated from *Dalbergia odorifera*, *Biochem. et Biophys.*, **1392**, 291-299
- Chibber, Shyam S., dan Urmil Khera, 1979, Dalbinol-A New 12a-hydroxyrotenoid From *Dalbergia latifolia* Seeds, *Phytochem.*, **17**, 1442-1443
- Chibber, Shyam S., dan Urmil Khera, 1979, *Dalbin: A 12a-hidroxy rotenoid glycoside from Dalbergia latifolia*, *Phytochem.*, **18**, 188-189
- Chuankhayan, P., Hua, Y., Svasti, J., Sakdarat, S., Sullivan, P.A., dan James R.K.C., 2005, Purification of An Isoflavonoid 7-O- β -apiosyl-glucoside β -glycosidase and Its Substrates from *Dalbergia nigrescens* Kurz, *Phytochem.*, **66**, 1880-1889
- Chuankhayan, P., Rimlumduan, T., Tantanuch, W., Mothong, N., Kongsaree P.T., Metheenukul, P., Svasti, J., Jensen, O.N., dan James R.K.C., 2007, Functional and Structural Differences Between Isoflavonoid β -glycosidases from *Dalbergia sp.*, *Biochem. and Biophys.*, **468**, 205-216
- Cook, J.T., Ollis, W.D., Sutherland, I.O., dan Otto R.G., 1978, Pterocarpanes from *Dalbergia spruceana*, *Phytochem.*, **17**, 1419-1422
- Dewick, P.M., 2009, Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd Ed., John Wiley and Sons, 154-155
- Donnelly, B.J., Donnelly, D.M.X., dan A.M. O'Sullivan, 1968, The occurrence of Melanenin in The Genus *Dalbergia*, *Tetrahedron*, **24**, 2617-2622
- Donnelly, D.M.X., Geoghegan, M.R., dan B.J. Nangle, 1965, *Dalbergia Species-III*, *Tetrahedron*, **49**, 4451-4455
- Donnelly, D.M.X., dan Joseph O., 1975, Neoflavonoids of *Dalbergia melanoxylon*, *Phytochem.*, **14**, 2287-2290
- Donnelly, D.M.X., Keenan P.J. dan J.P. Prendergast, 1973, Isoflavonoids of *Dalbergia ecastophyllum*, *Phytochem.*, **12**, 1157-1161
- Donnelly, D.M.X., Nangle, B.J., Prendergast, J.P., dan A.M. O'Sullivan, 1968, Isolation of R-5-O-methylatifolin from *Dalbergia cochinchinensis*, *Phytochem.*, **7**, 647-649
- Donnelly, D.M.X., O'Reilly, J., dan J. Thompson, 1972, Neoflavanoids of *Dalbergia cultrata*, *Phytochem.*, **11**, 823-826
- Edayadulla, N. dan Penugonda R., 2012 Antibacterial Activity of Various Stem Extracts of *Dalbergia coromandeliana*, *J. Trop. Biomed.*, 1388-1391

- Engler, T.A., LaTessa, K.O., Iyengar, R., Chai, W., dan Konstatinos A., 1996, Stereoselective Syntheses of Substitued Pterocarpan with Anti-HIV Activity, and 5-Aza-/5-Thia-pterocarpan and 2-Aryl-2,3-dihydrobenzofuran Analogues, *Bioorg. & Medi. Chem.*, **4** (10), 1755-1769
- Gregson, M., Ollis, W.D., redman, B.T., Sutherland, I.O., Dietrichs, H.H. dan Otto R.G., 1978, Obtusastylene and Obtustylene, Cinnamylphenols from *Dalbergia retusa*, *Phytochem.*, **17**, 1395-1400
- Gregson, M., Ollis, W.D., Sutherland, I.O., Gottlier, O.R., dan Mauro, T.M., 1978, Violastylene and Isoviolastylene Cinnamylphenols from *Dalbergia miscolobium*, *Phytochem.*, **17**, 1375-1377
- Hamburger, M.O., Cordell G.A., 1987, Traditional Medicinal Plants of Thailand, VIII. Isoflavonoids of *Dalbergia Candanensis*, *J. Nat. Prod.*, **50**, 696-699
- Heyne, K., 1987, Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta.
- Huerta, B.E.B., Peralta, J., Gonzalez, R.F., dan Joe K., 2004, Neocandenatone, An Isoflavan-Cinnamylphenol Quinone Methide Pigment from *Dalbergia congestiflora*, *Phytochem.*, **65**, 925-928
- Hunter, R., Muhanji, C.I., Hale, I., Bailey, C.M., Basavapathruni, A., dan Karen S.A., 2007, [d4U]-butyne-[HI-236] As A Non-Cleavable, Bifunctional NRTI/NNRTI HIV-1 Reverse-Transcriptase Inhibitor, *Bioorg. And Med. Chem*, **17**, 2614-2617
- Ito, C., Itoigawa, M., Kanematsu, T., Ruangrungs, N., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H., dan Hiroshi F., 2003, Isoflavonoids from *Dalbergia olivari*, *Phytochem.*, **64**, 1265-1268
- Jayanti, E., 2008, Deskripsi dan Faktor yang Berpengaruh Terhadap Status HIV pada Penggunaan Klinik-Klinik Layanan Tes HIV di DKI Jakarta & Bali Tahun 2007, *Skripsi* Fakultas Kedokteran Masyarakat UI, Depok.
- Jie, F., Hong, L., Yu-ying, Z., dan Wu Z., 2006, Flavonoid from *Millettia nitita* var. *hirrutissima*, *J. Chinese Pharm. Sci.*, **15** (3), 178-181
- Jurd, L., Stevens, K., dan G. Manners, 1972, Phenolic and Quinoidal Constituents of *Dalbergia retusa*, *Tetrahedron*, **21**, 2149-2152
- Kaennakam, S., Siripong, P., dan Santi T., 2015, Velucarpin A-C, Three New Pterocarpan and Their Cytotoxycity from The Roots of *Dalbergia velutina*, *Fito.*, **105**, 165-168

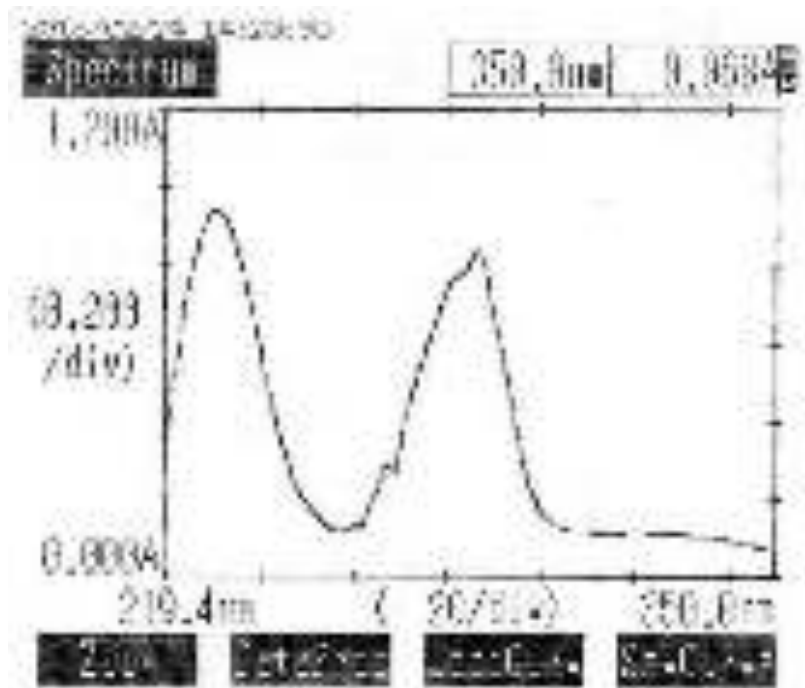
- Kale, M., Misar, A.V., Dave, V., Joshi, M., dan A.M. Mujumdar, 2007, Anti-Inflammatory Activity of *Dalbergia lanceolaria* Bark Ethanol Extract in Mice and Rats, *J. Ethnopharm.*, **112**, 300-304
- Khan, I.A., Avery, M.A., Burandt, C.L., Goins, D.K., Mikell, J.R., Nash, T.E., Azadegan, A., dan I.A. Walker, 2000, Antigiardial Activity of Isoflavones from *Dalbergia frutescens* Bark, *J. Nat. Prod.*, **63**, 1414-1416
- Kurosawa, K., Ollis, W.D., Sutherland, I.O., dan Otto R.G., 1978, Variabilin, A 6-aHydroxypterocarpan from *Dalbergia Variabilis*, *Phytochem.*, **17**, 1417-1418
- Liu, R., Sun, J., Bi, K., dan De-an G., 2005, Identification and Determination of Major Flavonoids in Rat Serum by HPLC-UV and HPLC-MS Methods Following Oral Administration of *Dalbergia odorifera* Extract, *J. Chrom.*, **829**, 35-44
- Maekawa, E. dan Koichiro K., 1970, Isolation of Pterocarpanoid Compounds as Heartwood Constituents of *Maackia amurensis* RUPR. Et MAXIM var *Buergeri* SCHNEID, KURENAI, **50**, 29-35
- Malhotra, A., Murti, V.V.S., dan T.R. Seshadri, 1967, Lanceolarin, A New Isoflavone Glycoside of *Dalbergia Lanceolaria*, *Tetrahedron*, **23**, 405-409
- Manitto, P., 1992, Biosintesis Produk Alami, Terjemahan Koensoemardiyah dan Sudarto, *Ellis Horwood Limited*, New York.
- Martinez-sotres, C.M., Albarran, P., Leon, J.C.D., Moreno, T.G., Quinones, J.G.R., Marrufo, G.V., Mascarua, J.T. dan Rafael H.B., 2012, Medicarpn, An Antifungal Compound Identified in Hexane Extract of *Dalbergia congestiflora* Pittier Heartwood, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **69**, 38-40
- Mathias, L., Vieira, I.J.C., Braz-Filho, R., dan Edson R., 1998, A New Isoflavone Glycoside from *Dalbergia nigra*, *J. Nat. Prod.*, **61**, 1158-1161
- Muangnoicharoen, N., dan August W.F., 1981, Arylbenzofurans from *Dalbergia parviflora*, *Phytochem.*, **20**, 291-293
- Mutai, P., Heydenreich, M., Thoithi, G., Mugumbate, G., Chibale, K., dan Abiy Y., 2013, 3-Hydroxyisoflavanones from The Stem Bark of *Dalbergia melanoxylon*: Isolation, Antimycobacterial Evaluaion and Molecular Docking Studies, *Phytochem. Lett.*, **6**, 671-675
- Nagarajan, N.S., Sethuraman, M.G., Manoj, C.N., dan R. Priya R., 2006. Dalsympathetin-A New isoflavone Gentobioside from *Dalbergia sympathetica* (Dennst.), *Nat. Prod. Res.*, **20** (2), 195-200

- Narayanan, M.C., dan Natesan S.N., 1988, Two Isoflavone Galactosides from *Dalbergia spinosa*, *Phytochem.*, **27** (7), 2364-2365
- Narayanan, M.C., Rao, P.R., Shanmugam, N.N., Gopalakrishnan, S.M., dan Kshama D., 2007, Isolation and Characterisation of Bioactive Isoflavonoids from the Roots of *Dalbergia horrida*, *Nat. Prod. Res.*, **21** (10), 903-909
- Parthasarathy, M.R., Seshadri, T.R., dan R.S. Varma, 1976, New Isoflavonoid Glycosides from *Dalbergia paniculata*, *Phytochem.*, **15**, 1025-1027
- Parthasarathy, M.R., Seshadri, T.R., dan R.S. Varma, 1976, Triterpenoids and Flavonoids of *Dalbergia sericea* Bark, *Phytochem.*, **15**, 226-227
- Pathak, V., Shiota, O., Sekita, S., Hirayama, Y., Hakamata, Y., Yanagawa, T., dan Motoyashi, S., 1997, Antiandrogenic Phenolic Constituents from *Dalbergia cochinchinensis*, *Phytochem.*, **7**, 1219-1223
- Pleumpanupat, S., Kumrungsee, N., Pleumpanupat, W., Ngamkitpinyo, K., Chavasiri, W., Bullangpoti, V., dan Opende K., 2013, Laboratory Evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae-Fabales) Extracts and Isolated Isoflavonoids on *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) Mosquitoes, *Indust. Crops and Prod.*, **44**, 653-658
- Ramesh, P., dan C.R. Yuvarajan, 1995, Coromandelin, A New Isoflavone Apioglucoside from The Leaves of *Dalbergia coromandeliana*, *J. Nat. Prod.*, **58** (2), 1240-1241
- Rao, J.R., dan R. Srinivasa R., 1991, Dalpaniculin, A C-Glycosylisoflavone from *Dalbergia paniculata* Seeds, *Phytochem.*, **30** (2), 715-716
- Rao, P.R., Narayanan, M.C., Gopalakrishnan, S.M., dan Nagarajan N.S., 2007, Two New Isoflavonoids from the Roots of *Dalbergia congesta*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **8**, 1-2
- Sharma, M.C., 2014, Structural Requirements of N-aryl-oxazolidinone-5-carboxamide derivatives for anti-HIV protease activity Using Molecular Modelling Techniques, *J. Taibah Univ. Sci.*, **8**, 111-123
- Shiota, O., Pathak, V., Sekita, S., Satake, M., Nagashima, Y., Hirayama, Y., Hakamata, Y., dan Tatsuo H., 2003, Phenolic Constituents from *Dalbergia cochinchinensis*, *J. Nat. Prod.*, **66**, 1128-1131
- Shrestha, S.P., Amano, Y., Narukawa, Y., dan Tadaihiro T., 2008, Nitric Oxide production Inhibitory Activity of Flavonoids Contained in Trunk Exudates of *Dalbergia sisso*, *J. Nat. Prod.*, **71**, 98-101
- Souza, I.S.D., Gottlieb, O.R., Andrade, C.H.S.A., dan Mauro T.M., 1975, Flavonoids from *Dalbergia cearensis*, *Phytochem.*, **14**, 1452-1453

- Songsiang, U., Hahnvajjanawong, C., dan Chavi Y., 2011, Cytotoxicity of Chemical Constituents from The Stems of *Dalbergia parviflora*, *Fito.*, **82**, 1169-1174
- Suzuki, J.I., Kurosaki, N.M., Kuwasaki, T., Takeuchi, H., Kawai, G., dan Hiroshi T., 2002, Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activity In Vitro by New Self-Stabilized Oligonucleotide with Guanosine-Thymidine Quadruplex Motifs, *J. Viro.*, **76** (6), 3015-3022
- Sripathi, S.K., Gandhidasan, R., Raman, P.V., Krishnasamy, N.R., dan Srinivas N., 1994, First Occurrence of A Xanthone and Isolation of A 6-Ketohydrototenoid from *Dalbergia sissooides*, *Phytochem.*, **37**(3), 911-912
- Umehara, K., Nemoto, K., Matsushita, A., Terada, E., Monthakantirat, O., De-Eknamkul, W., Miyase, T., Warashina, T., Degawa, M., dan Hiroshi N., 2009, Flavonoids from the Heartwood of the Thai Medicinal Plant *Dalbergia parviflora* and Their Effects on Estrogenic-Responsive Human Breast Cancer Cells, *J. Nat. Prod.*, **72**, 2163-2168
- Wang, H., Dong, W., Zuo, W., Wang, H., Zhong, H., Mei, W., dan Hao-Fu D., 2014, Three New Phenolic Compound from *Dalbergia odorifera*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **16** (12), 1109-1118
- Ye, X.Y., Wang, H.X., dan T.B. Ng, 2000, Dolichin, A New Chitinase-like Antifungal Protein Isolated from Field Beans (*Dolichin lablab*), *Biochem. and Biophys. Res. Comm.*, **269**, 155-159
- Yu, X., Wang, W., dan Ming Y., 2007, Antioxidant activities of compounds Isolated from *Dalbergia odorifera* T. Chen and Their Inhibition Effects on The Decrease of Glutathione Level of Rat Lens Induced By UV Irradiation, *Food Chem.*, **104**, 715-720

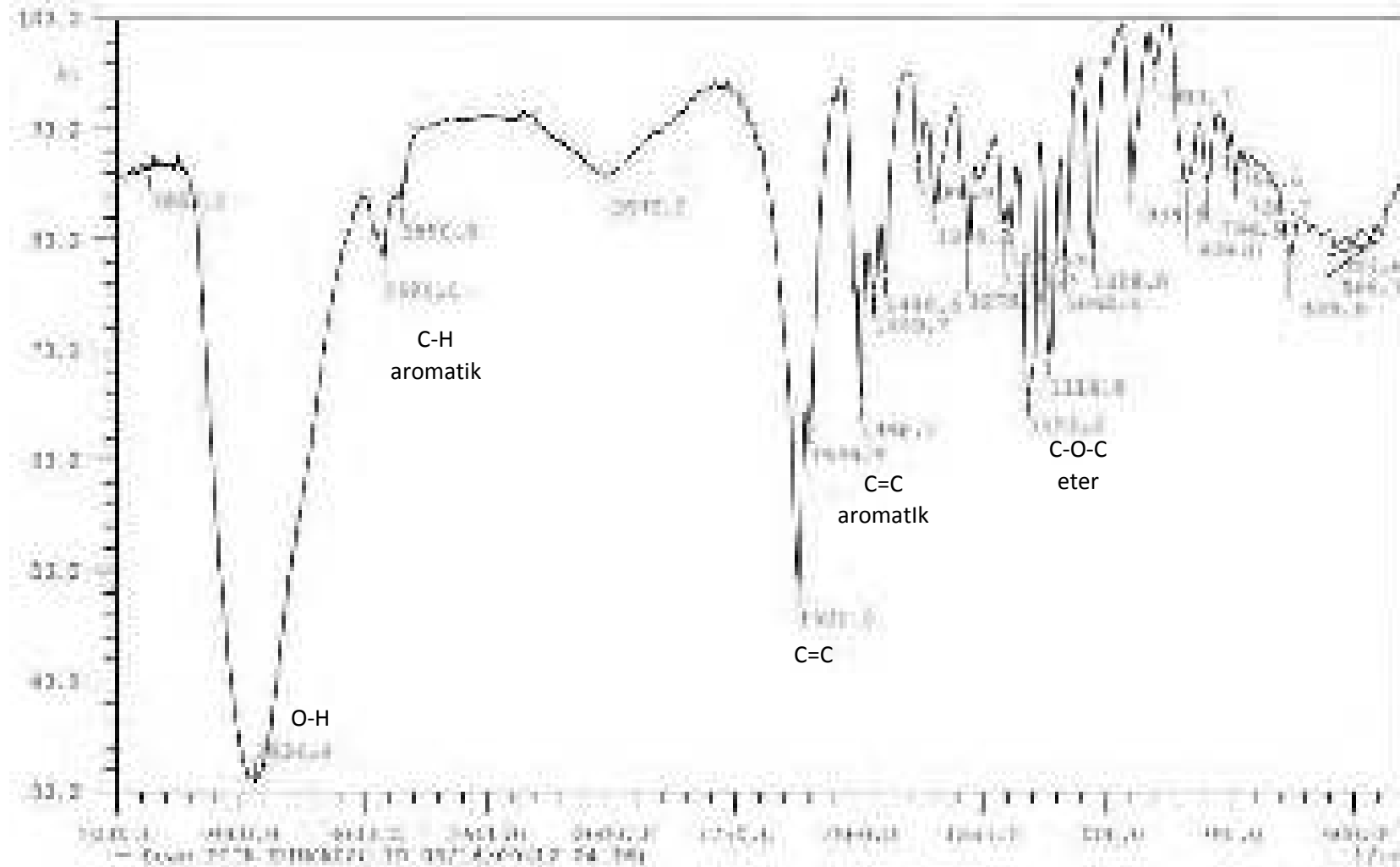
LAMPIRAN

Lampiran-1. Hasil pengukuran spektrum UV senyawa medikarpin dalam metanol

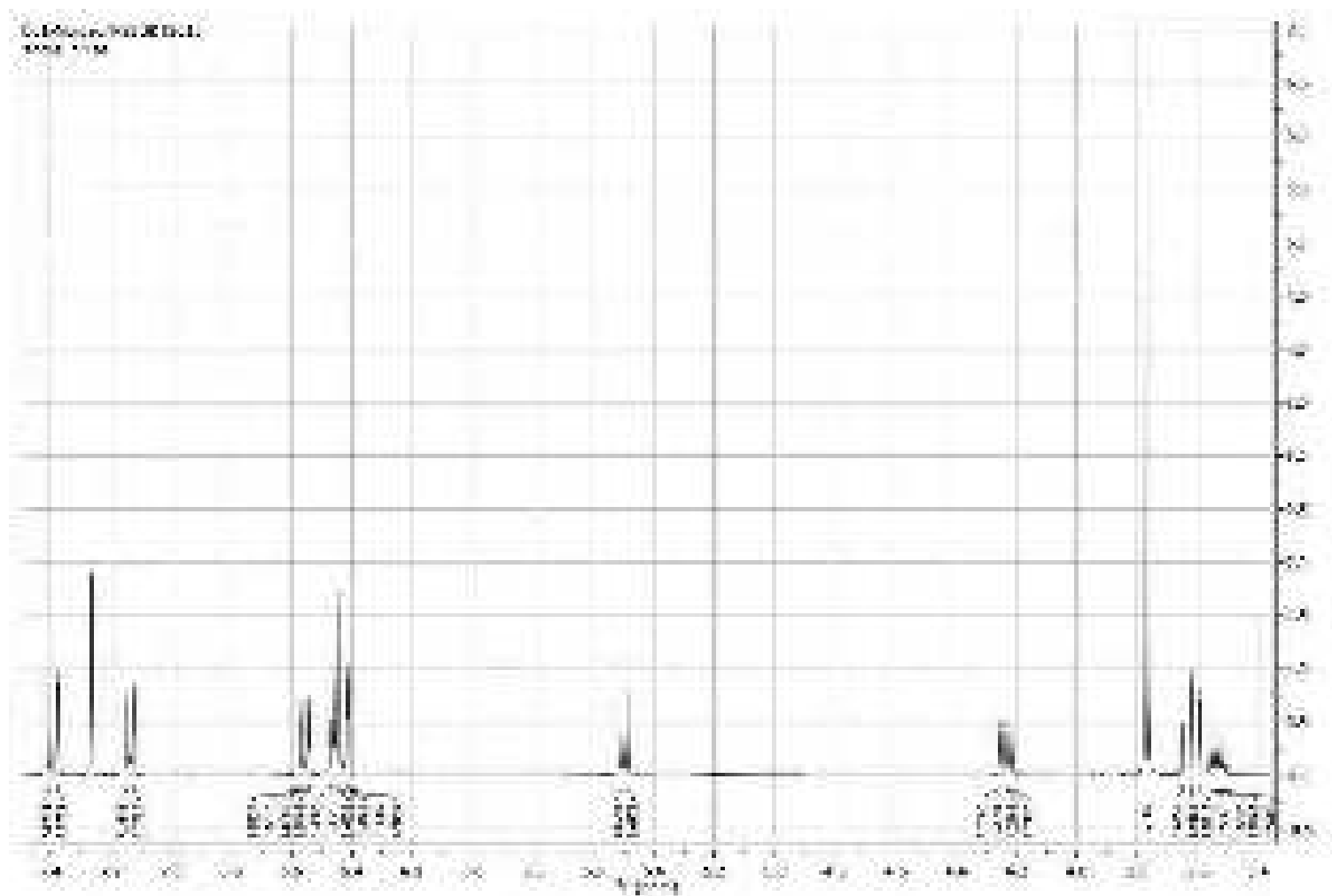


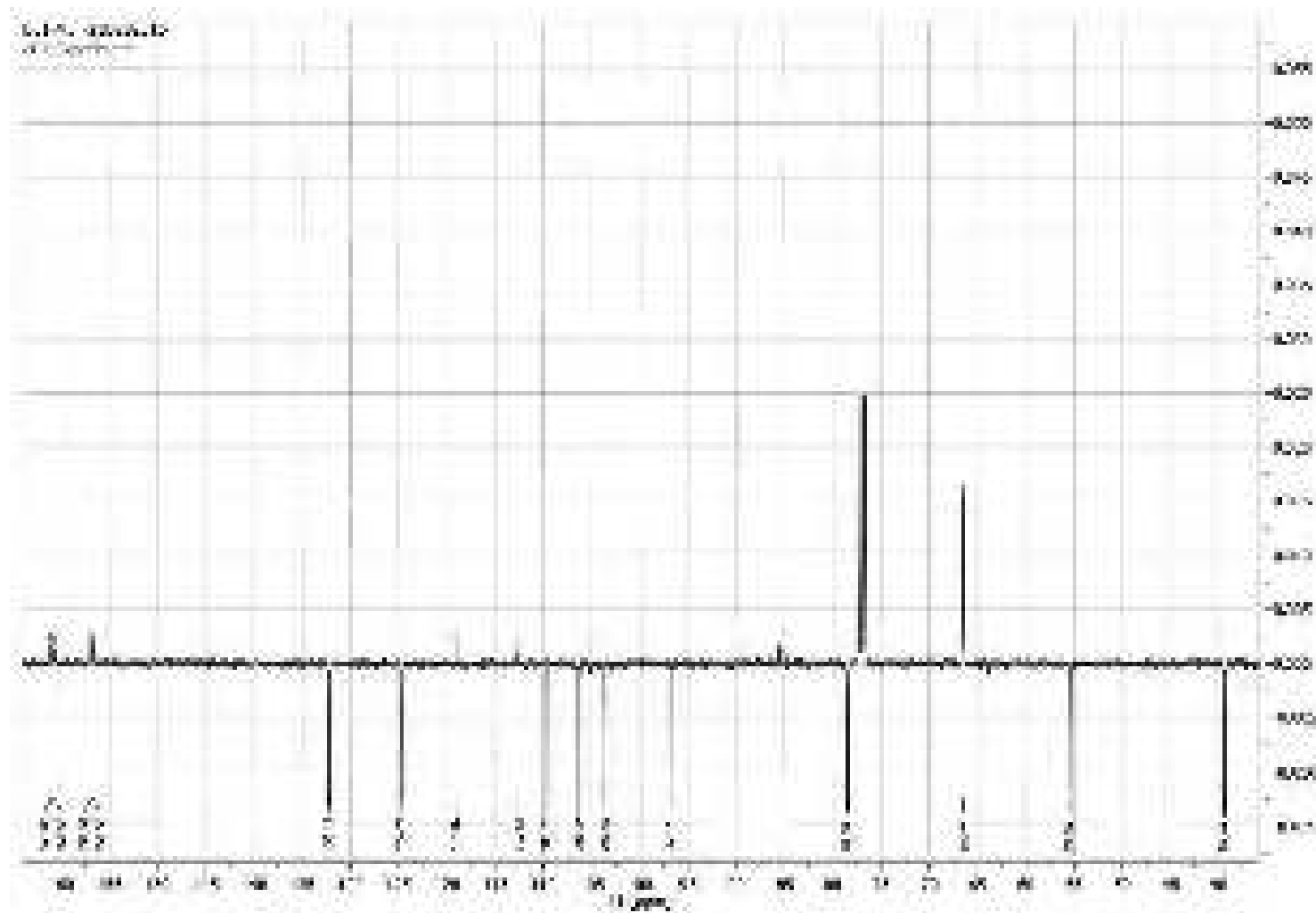
λ (nm)	Abs
231	0,937
267	0,289
281	0,773
286	0,840

Lampiran-2. Hasil pengukuran spektrum IR senyawa medikarpin

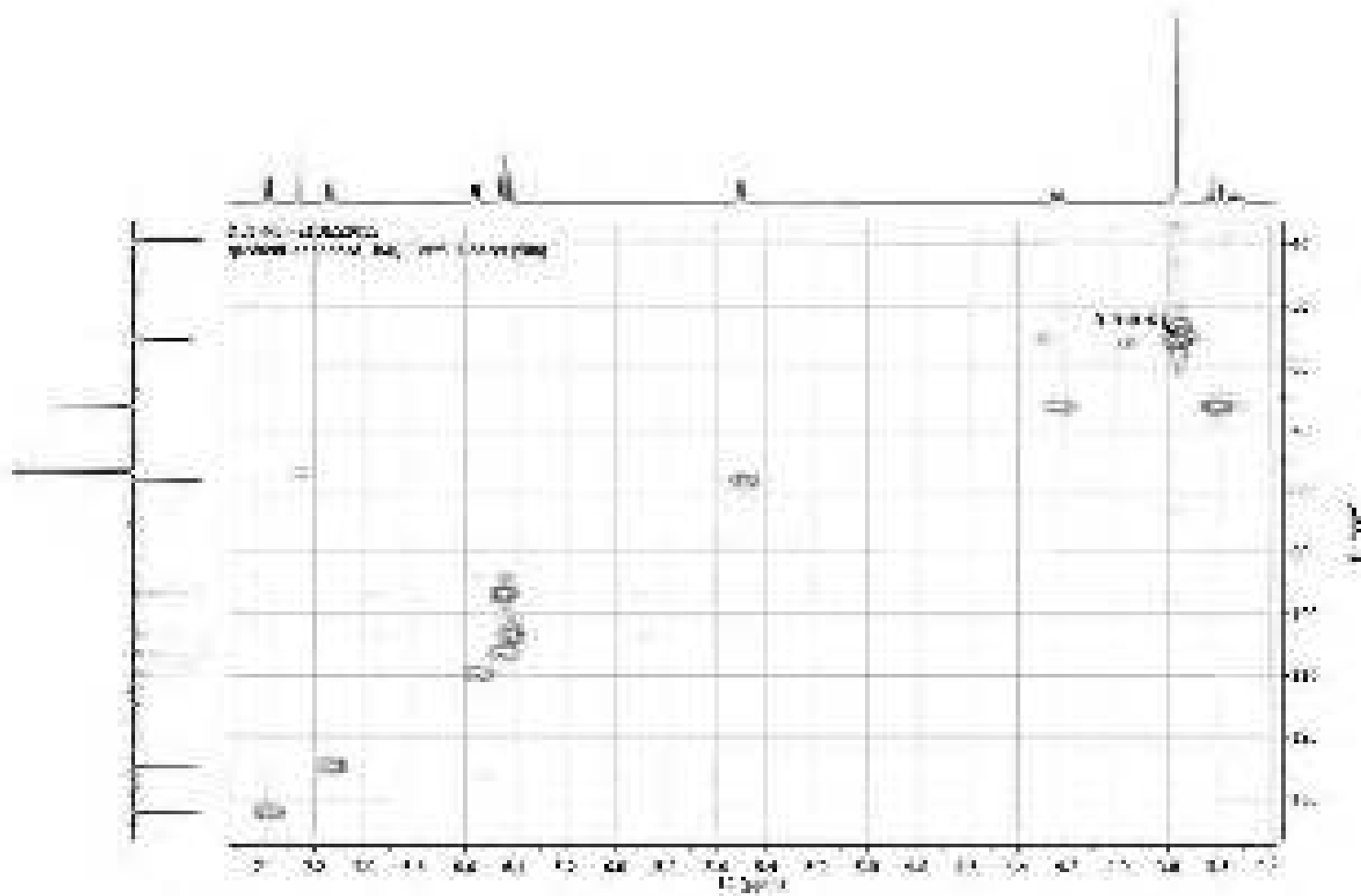


Lampiran-3. Hasil pengukuran spektrum ^1H -NMR senyawa medikarpin

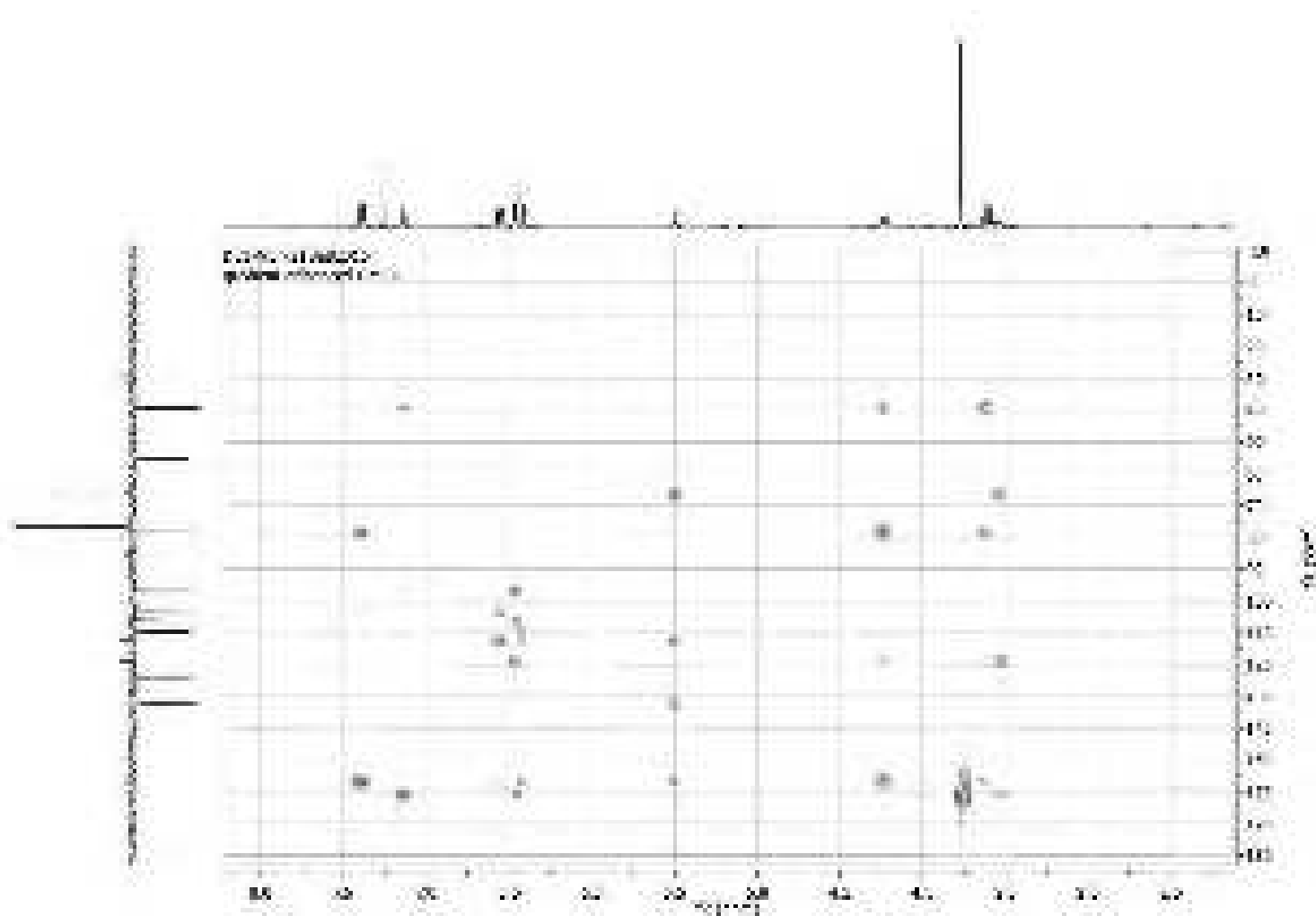


Lampiran-4. Hasil pengukuran spektrum ^{13}C -NMR senyawa medikarpin

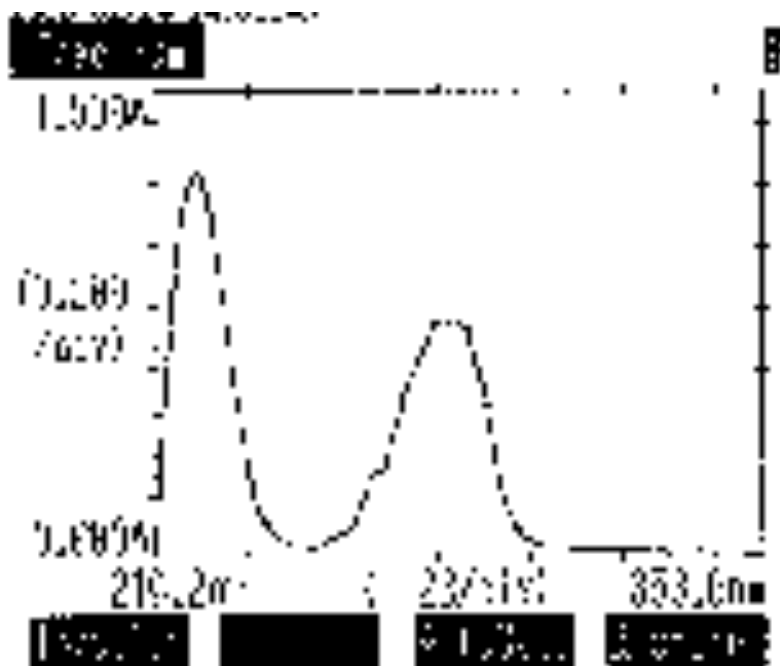
Lampiran-5 Hasil pengukuran spektrum HMQC senyawa medikarpin



Lampiran-6 Hasil pengukuran spektrum HMBC senyawa medikarpin

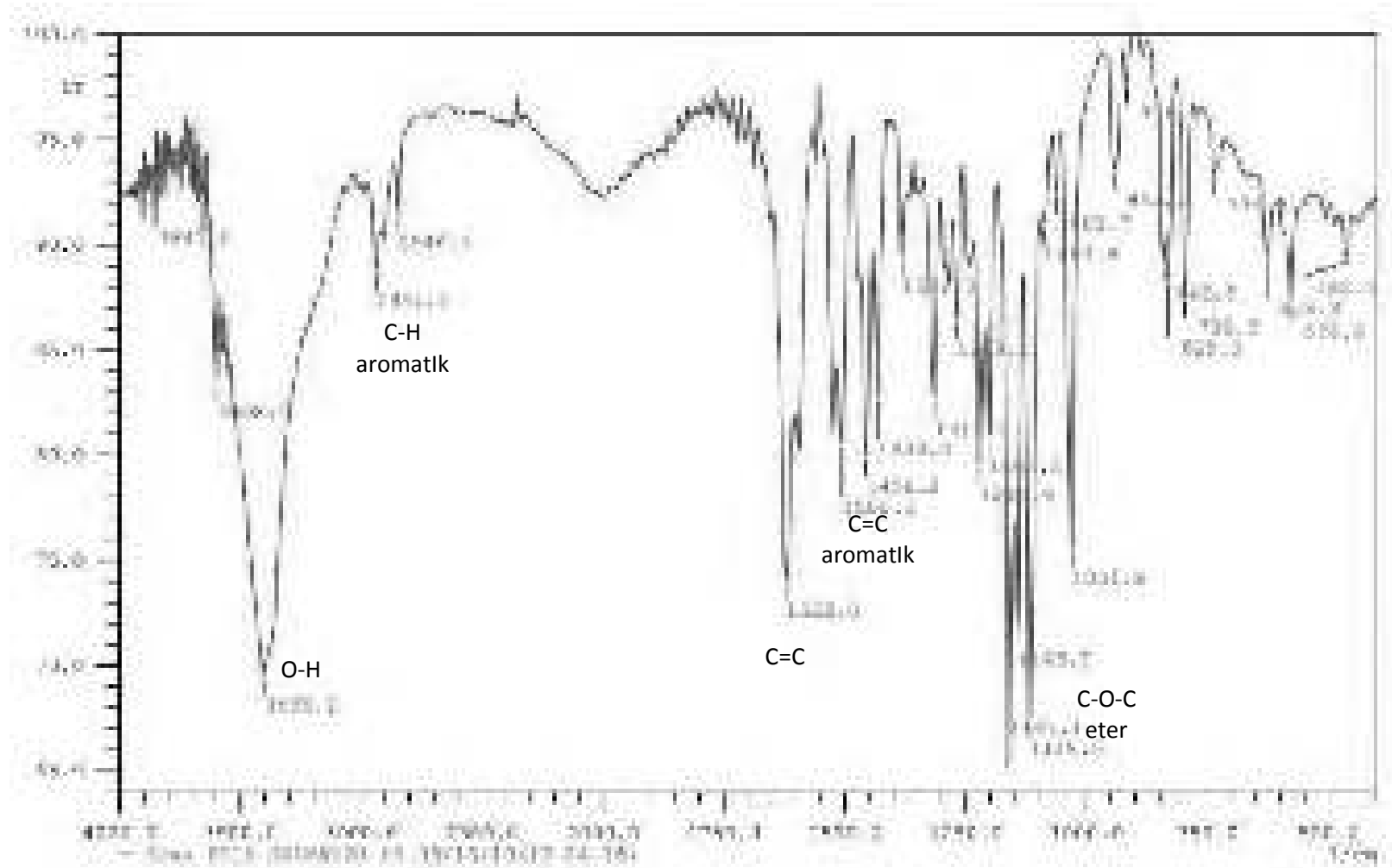


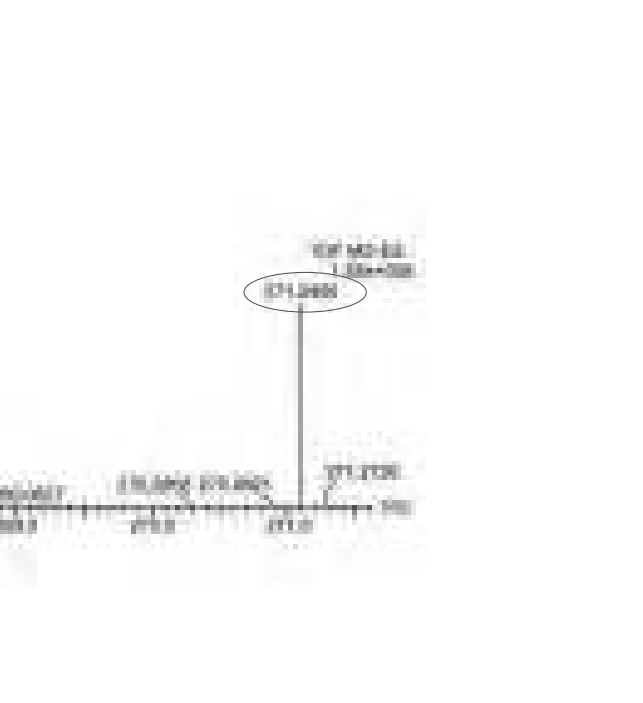
Lampiran-7 Hasil pengukuran spektrum UV senyawa (3R)-vestitol dalam metanol

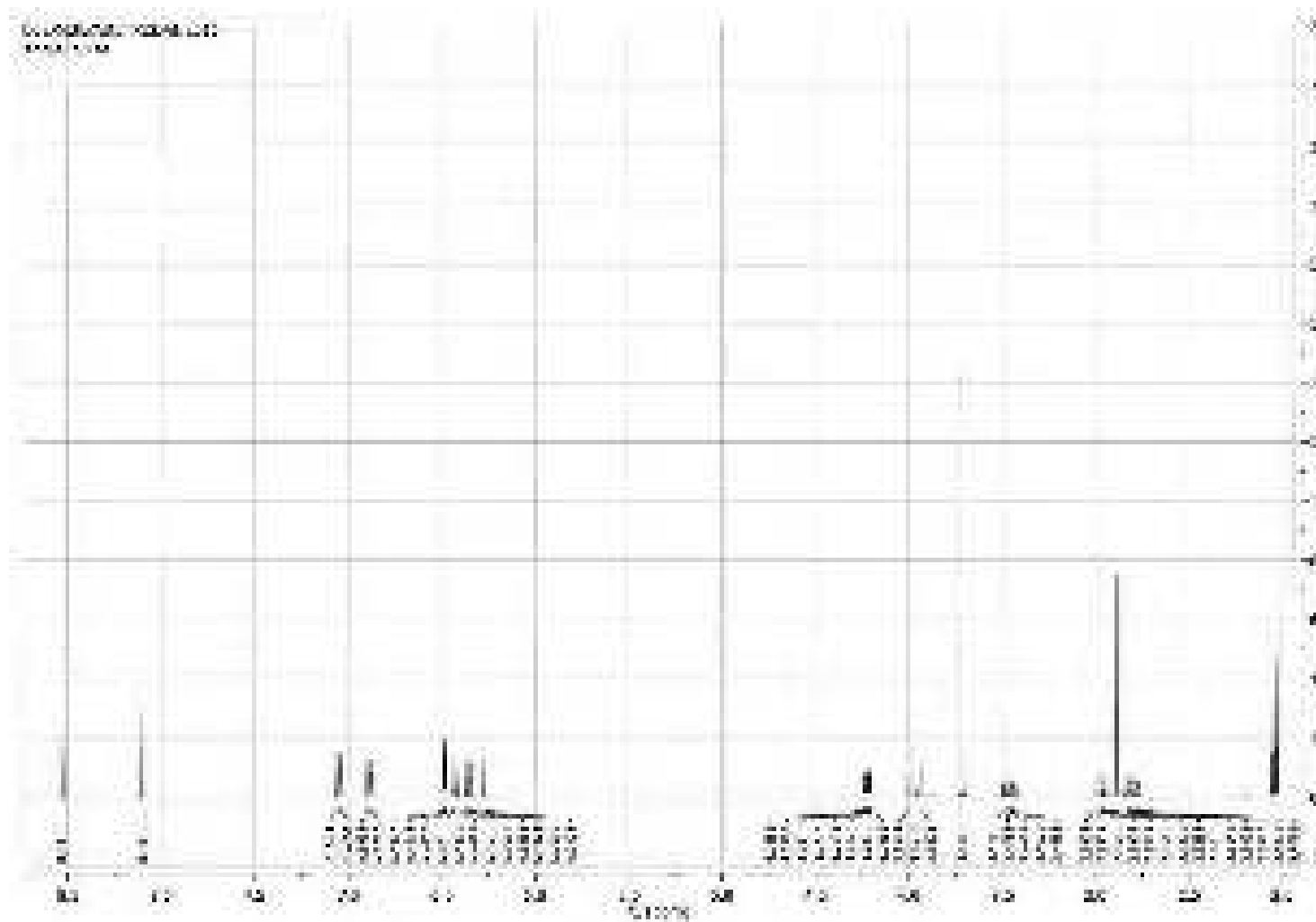


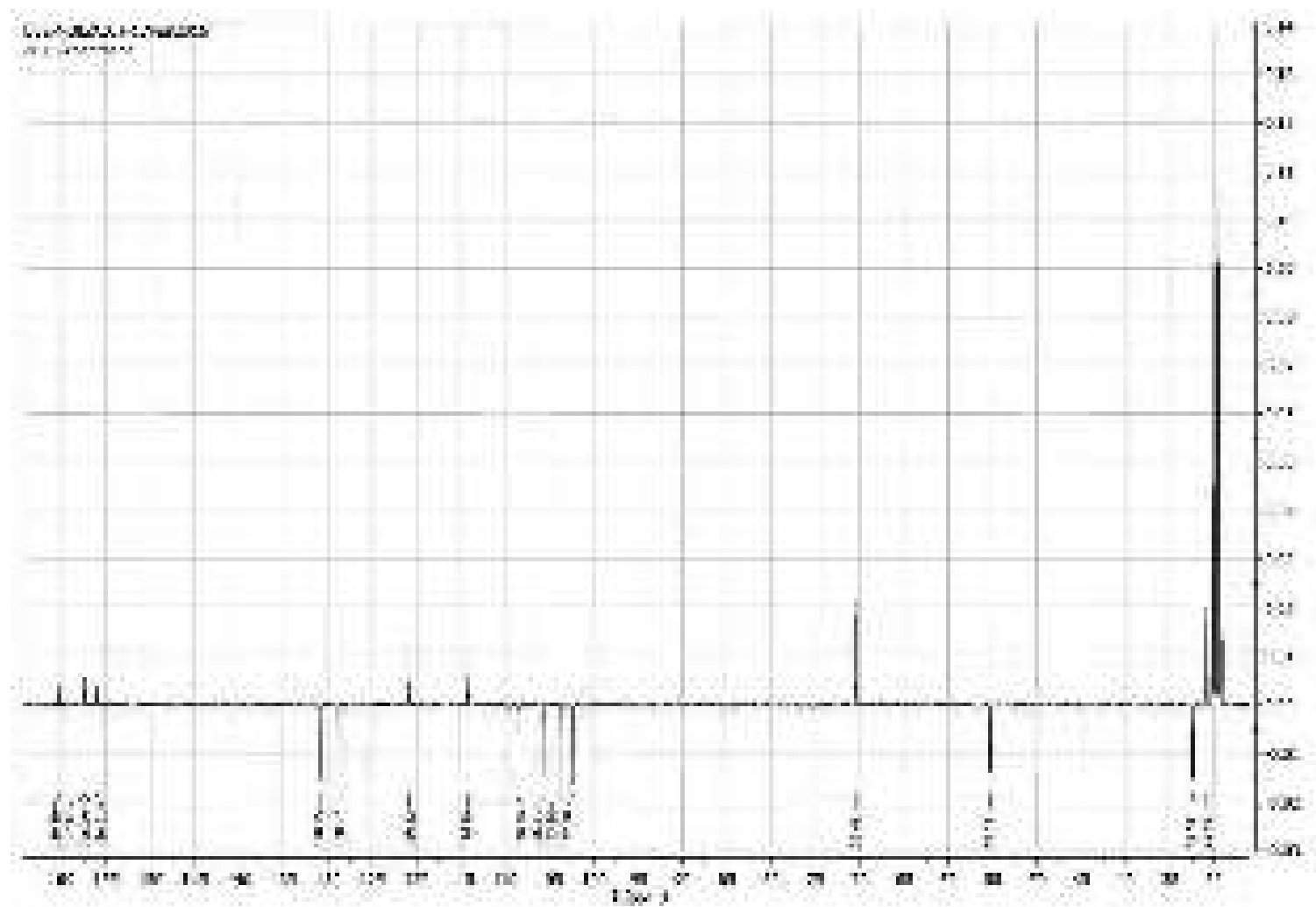
λ (nm)	Abs
229	1,231
268	0,273
281	0,757
284	0,756

Lampiran-8 Hasil pengukuran spektrum IR senyawa (3R)-vestitol

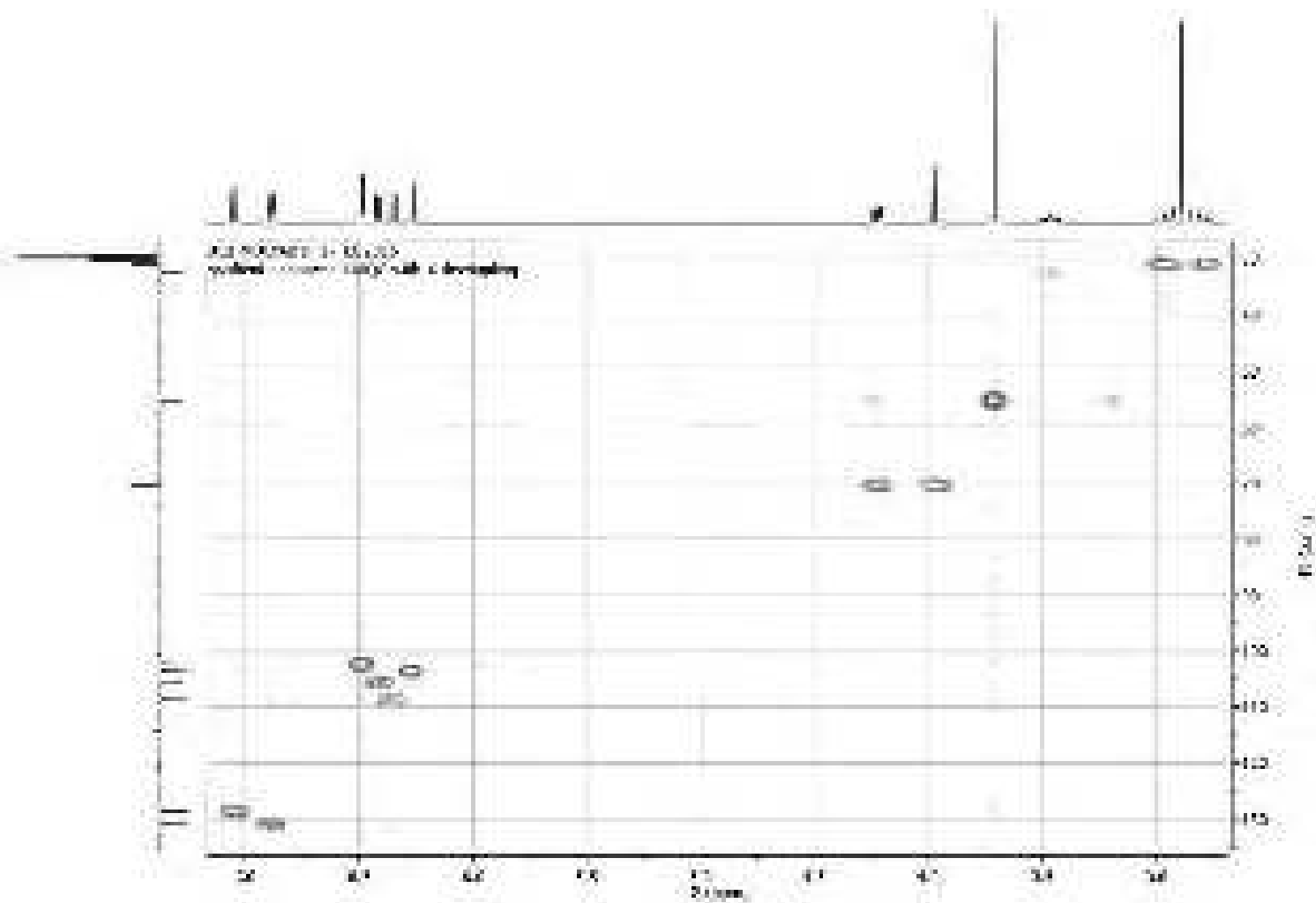




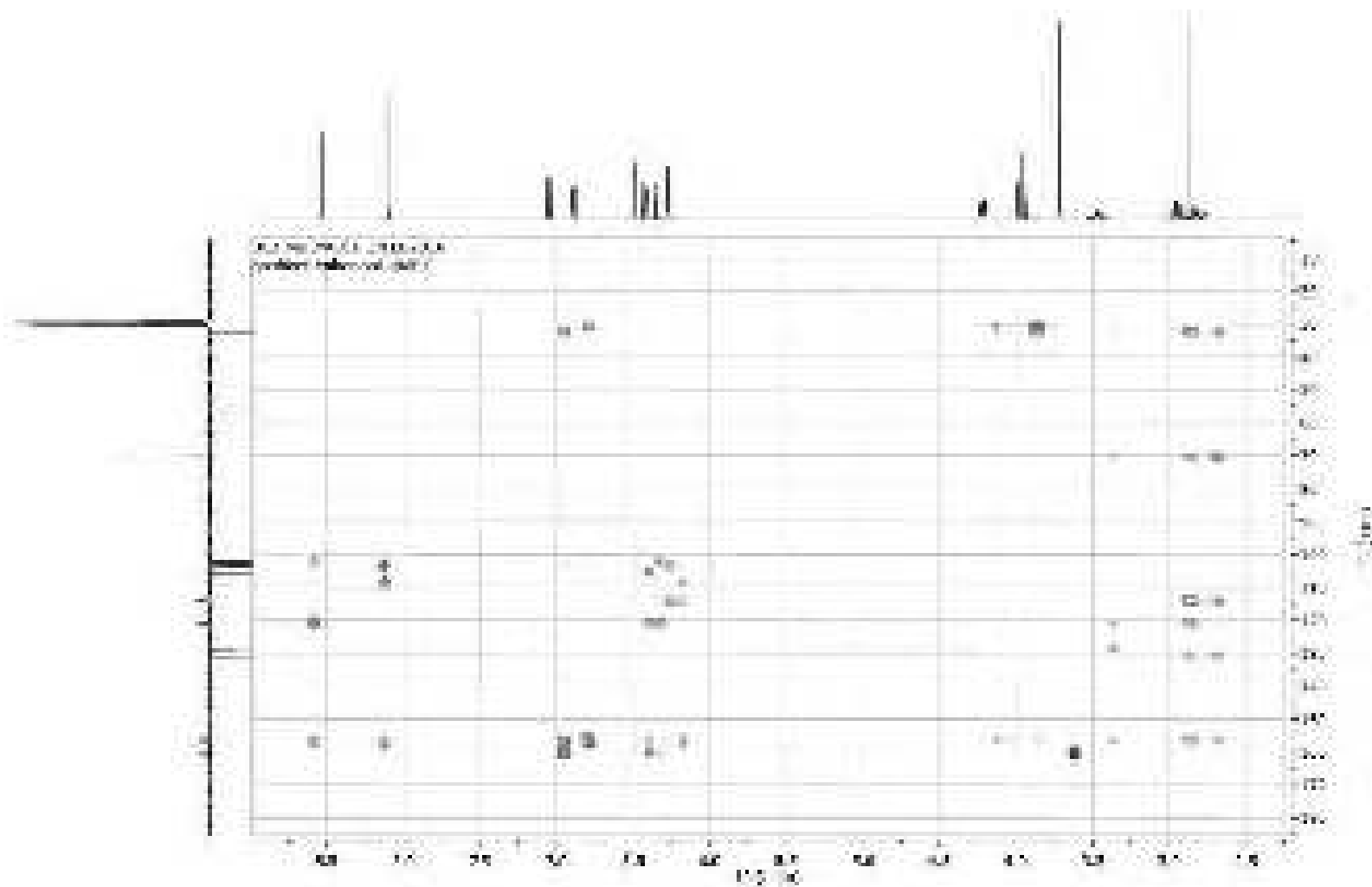
Lampiran-10 Hasil pengukuran spektrum ^1H -NMR senyawa (3R)-vestitol

Lampiran-11 Hasil pengukuran spektrum ^{13}C -NMR senyawa (3R)-vestitol

Lampiran-12 Hasil pengukuran spektrum HMQC senyawa (3R)-vestitol



Lampiran-13 Hasil pengukuran spektrum HMBC senyawa (3R)-vestitol



Lampiran-14 Data hasil uji aktivitas anti-HIV ekstrak etilasetat, senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol

Konsentrasi (ppm)	Jumlah <i>syncytia</i> yang terbentuk						
	Ekstrak etilasetat	Medikarpin			(3R)-Vestitol		
		percobaan 1	percobaan 2	rata-rata	percobaan 1	percobaan 2	rata-rata
25	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	91	85	88	91	93	92
12,5	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	110	138	124	112	115	113.5
6,25	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	96	141	118,5	124	124	124
3,125	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	107	72	89,5	108	115	111.5
1.56	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	69	60	64,5	112	127	119.5
0.78	57	69	53	61	125	108	16,5
Kontrol negatif	113	186			179		

Dari data di atas, dilakukan perhitungan persentase hambatan senyawa uji menggunakan rumus :

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{(\text{jumlah } \textit{syncytia} \text{ pada kontrol negatif} - \text{jumlah } \textit{syncytia} \text{ pada senyawa uji})}{\text{jumlah } \textit{syncytia} \text{ pada kontrol negatif}} \times 100 \%$$

sehingga didapatkan persentase hambatan senyawa uji masing-masing sebagai berikut :

Konsentrasi (ppm)	% Hambatan senyawa uji		
	Ekstrak etilasetat	Medikarpin	(3R)-Vestitol
25	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	52.69	48.60
12,5	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	33.33	36.59
6,25	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	36.29	30.73
3,125	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	51.88	37.71
1,56	tidak terbentuk <i>syncytia</i>	65.32	33.24
0,78	49,56	67.20	34.92

Formula yang digunakan pada analisis *forecast* senyawa medikarpin dan (3R)-vestitol adalah

$$=\text{FORECAST}(x, \text{known_x's}, \text{known_y's})$$

dengan x adalah titik data yang diprediksikan, dalam hal ini diisi 50 karena titik yang akan diprediksikan adalah daya hambat 50%. Known_x's merupakan rentang data terikat sumbu x, dalam hal ini adalah persentase hambatan senyawa uji. Known_y's merupakan rentang data terikat sumbu y, dalam hal ini adalah konsentrasi senyawa uji yang digunakan. Sehingga didapatkan nilai IC₅₀ sebagai berikut :

IC ₅₀	Senyawa Uji		
	Ekstrak etilasetat	Medikarpin	(3R)-Vestitol
	0,78 ppm	23,26 ppm	26,45 ppm